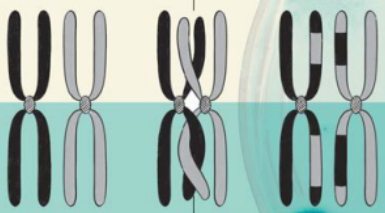
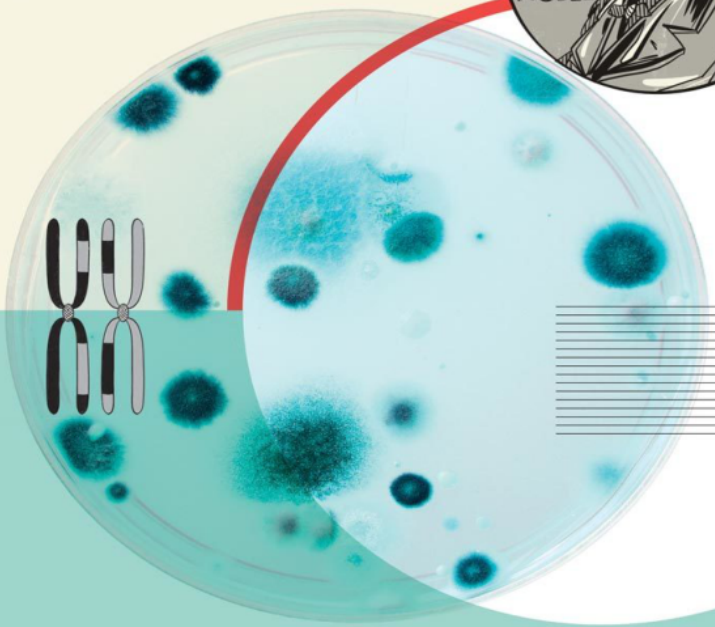
30 Нобелевских премий

Открытия, изменившие медицину

Ольга Шестова
Лев Иноземцев





АНО Альпина нон-фикшн

SHOUT
SHARE
IT

Annotation

Самая известная и почетная в мире премия – Нобелевская – ежегодно присуждается за выдающиеся научные исследования, революционные изобретения, вклад в культуру или развитие общества. В этой книге речь пойдет о лауреатах премии по физиологии или медицине. На момент написания книги вручено 210 премий 219 лауреатам. Из них мы отобрали 30 – тех, чьи работы широко используются, значение которых известно каждому, а суть понятна любому человеку без специального образования – небезразличному к медицине и собственному здоровью. Открытия объединены по темам и собраны в шести главах, посвященных физиологии, генетике, патогенам, медицинским методам и фармакологии. Чтение можно начать с любой главы – с той темы, которая вам кажется самой интересной.

- Ольга Шестова, Лев Иноземцев
  -
  - Предисловие
  - ГЛАВА 1. Столетний путь физиологии: от фагоцитоза до аутофагии
    - Условно и безусловно: это рефлексы
    - Открытие иммунитета
    - Кто разделил кровь на группы?
    - С чего начинается пищеварение
    - Плохой и хороший холестерин
      -
      - Что происходит при нарушенном уровне холестерина?
    - Аутофагия внутри нас, или как наконец похудеть и защититься от рака
  - ГЛАВА 2. Гены в XX веке: от открытия до редактирования
    - Создание хромосомной теории наследственности
    - Слово из трех букв: ДНК – ключевое открытие XX века
    - Расшифровка генетического кода
    - С чего началось редактирование генома человека
  - ГЛАВА 3. Микровраги человеческие: от палочки Коха до ВИЧ

        - Туберкулезная палочка, или с чего началась микробиология
        - Гастрит и язва – не от стресса, а от Хеликобактер пилори
        - Опасные вирусы ВИЧ и ВПЧ
            -
            - Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)
            - Открытие вируса папилломы человека, вызывающего рак шейки матки
    - ГЛАВА 4. Медицинские методы: от пересадки органов до ЭКО
        - Пересадка органов и кровеносных сосудов
        - Электрокардиография: что скрывает сердце
        - Катетеризация сердца
        - Как усмирить иммунитет при трансплантации органов
        - Ядерная физика на медицинской службе
        - ЭКО: непорочное зачатие и победа над бесплодием
    - ГЛАВА 5. Развитие фармакологии: от сыворотки крови до «Виагры»
        - Сыворотка крови против дифтерии
        - Инсулин: жить с диабетом долго и счастливо
        - Диета против анемии
        - Первый антибактериальный препарат
        - Пенициллин: спасительная плесень
        - Оксид азота – лучший друг мужчин
            -
            - Так что дает оксид азота мужчинам?
    - ГЛАВА 6. Нобелевские открытия XXI века
        - РНК-интерференция – «контролер» генетической информации
        - Теломера, преодолевшая предел Хейфлика
        - Индуцированные стволовые клетки: чудесные метаморфозы
        - Сверим наши биологические часы
    - Вместо заключения
        -
        - Библиография
        - Об авторах
- notes
    - 1
    - 2
    - 3

Ольга Шестова, Лев Иноземцев
30 Нобелевских премий: Открытия, изменившие медицину

Научный редактор *Александр Минич, канд. мед. наук*
Редактор *Елена Аверина*
Руководитель проекта *А. Тарасова*
Художественное оформление и макет *Ю. Буга*
Корректор *О. Петрова*
Компьютерная верстка *М. Поташкин*
Иллюстратор И. Горев / www.bangbangstudio.ru
Иллюстрация на обложке Shutterstock.com

© Ольга Шестова, Лев Иноземцев, 2019
© ООО «Альпина нон-фикшн», 2020

Все права защищены. Данная электронная книга предназначена исключительно для частного использования в личных (некоммерческих) целях. Электронная книга, ее части, фрагменты и элементы, включая текст, изображения и иное, не подлежат копированию и любому другому использованию без разрешения правообладателя. В частности, запрещено такое использование, в результате которого электронная книга, ее часть, фрагмент или элемент станут доступными ограниченному или неопределенному кругу лиц, в том числе посредством сети интернет, независимо от того, будет предоставляться доступ за плату или безвозмездно.

Копирование, воспроизведение и иное использование электронной книги, ее частей, фрагментов и элементов, выходящее за пределы частного использования в личных (некоммерческих) целях, без согласия правообладателя является незаконным и влечет уголовную, административную и гражданскую ответственность.

* * *

Предисловие
Нобелевская премия: как получить главную научную награду

Базовые знания о медицине нужны любому человеку, который вынужден обращаться к врачам и принимать лекарства, то есть практически каждому из нас. И лучше эти знания получить из источника более надежного, чем интернет, и более увлекательно, чем медицинские справочники. Однако до последнего времени не существовало книги, рассказывающей о том, как в XX и XXI веках совершались важнейшие открытия в области медицины и физиологии и какое влияние эти открытия оказали на жизнь всего человечества.

Самая известная и почетная в мире премия – Нобелевская – ежегодно присуждается за выдающиеся научные исследования, революционные изобретения, крупный вклад в культуру или развитие общества. Однажды одного из авторов этой книги, Ольгу Шестову, награждали за лучший проект года в крупнейшем российском издательстве, где она работала редактором. Во время церемонии директор издательства сравнил ту награду с премией «Оскар». Кандидату медицинских наук Ольге, которая пришла в книгоиздание после того, как долгое время занималась физиологией, пришлось поправить руководство: для нее престижная награда была сравнима в первую очередь с Нобелевской премией.

Нобелевская премия была учреждена в соответствие с завещанием Альфреда Нобеля на его деньги. Шведский ученый, изобретатель, предприниматель и филантроп Альфред Нобель родился в Стокгольме в 1833 году в семье промышленника Эммануила Нобеля младшим из четырех детей. Фамилия Нобель была очень известна в промышленных кругах XIX века. Несколько крупных фирм, созданных братьями Нобель и их отцом, занимались производством взрывчатых веществ и машиностроением. Им принадлежало также нефтеперерабатывающее предприятие в Баку, и в этом городе до сих пор сохранилось много памятных мест, связанных со знаменитыми промышленниками. Семья Нобель много средств отдавала на благотворительность: учреждала стипендии, финансировала научные исследования, а также работу медицинских и культурно-просветительских учреждений.

Альфред Нобель не заканчивал высших учебных заведений,

но получил прекрасное домашнее образование. В юности он увлекся химией и техникой, а начиная с 17 лет работал в европейских и американских лабораториях, где изучал химию уже на практике. Нобель был многогранной личностью: знал шесть языков, в том числе и русский, был хорошо знаком с философией, историей и литературой. Ему принадлежат открытия в биологии, химии, оптике, медицине, металлургии – всего более 300 изобретений. Самое известное из них – динамит. Причем Нобель был уверен, что его будут применять исключительно в мирных целях: при строительных работах и в горнодобывающей промышленности.

Изобретения приносили Нобелю приличный доход. Его компании располагались в двух десятках стран, а различные взрывчатые вещества по его патентам производились на сотне фабрик по всему миру. Нобель вел здоровый образ жизни, отказался от курения и алкоголя, азартные игры его никогда не интересовали. Официально женат он не был и детей не имел, так что за свою жизнь предприниматель накопил внушительное состояние. Он владел особняком в Ницце и домом в Париже, большим количеством акций мастерских, фабрик и лабораторий в Финляндии, России, Германии, Италии, Англии. На его счетах лежали огромные суммы денег.

Умер он в 63 года. Это случилось в 1896 году в итальянском Сан-Ремо. А в 1897-м было опубликовано знаменитое завещание Альфреда Нобеля, согласно которому и появилась премия его имени. В завещании инженер Нобель педантично перечислил представителей всех наук и видов деятельности, подлежащих награждению. Упомянул он и то, каких масштабов должны быть их заслуги перед человечеством. Наконец, он назвал источники финансирования, расписал периодичность присуждения премий, в какой пропорции следует распределять вознаграждение, кто выполняет организационные функции, и отдельно указал, что присуждение наград не должно зависеть от национальности лауреатов.

По завещанию Нобеля основная часть его состояния используется для ежегодных наград за открытия и деятельность, принесшие наибольшую пользу человечеству. Премии присуждаются в следующих областях: физика, химия, физиология или медицина, литература, борьба за мир. Все это входило в сферу интересов Нобеля. Физика и химия были близки ему как инженеру и изобретателю. Он уделял внимание медицине, потому что был болен. Он любил читать книги, писал стихи и сочинил пьесу. Нобель был убежденным пацифистом, мечтал об изобретении оружия, настолько мощного, чтобы никто на Земле

не решился начать войну из-за опасности уничтожения цивилизации. Похоже, именно эта его мечта сбывается.

Среди нобелевских номинаций нет такой базовой науки, как математика, что, конечно, вызывает удивление. Популярный миф о том, что в молодости Альфред потерпел поражение на любовном фронте из-за соперника-математика, ничем не подтвержден. Возможно, Нобель считал, что ни одно из направлений этой науки не может напрямую применяться на практике – как, например, химия или физиология. Прикладная математика – это вспомогательный инструмент для физики и химии, а «чистая» не приносит конкретной пользы человечеству. Но не будем переживать за математиков: без наград они не остаются и получают вместо Нобелевской другие премии, самая престижная из которых – Филдсовская премия по математике.

По инициативе Банка Швеции с 1969 года присуждается премия по экономическим наукам памяти Альфреда Нобеля. Формально она не относится к Нобелевской премии, потому что выплачивается не из средств, завещанных предпринимателем. Однако организационно она все же связана со знаменитой премией, и ее лауреаты именуются «нобелевскими». В 1900 году для финансирования и организации премий был создан Фонд Нобеля – он и разработал основные правила определения нобелевских лауреатов. Вот они. Премия мира может присуждаться как отдельным лицам, так и организациям, а в остальных номинациях лауреатами могут быть только конкретные люди. За открытия в каждой области выдается только одна награда, но могут поощряться одна или две работы, при этом общее число награжденных должно быть не больше трех. То есть один лауреат может получить от одной трети до целой премии.

В 1974 году было введено правило, по которому Нобелевскую премию нельзя присуждать посмертно. Исключение сделали лишь раз, когда лауреат скончался за несколько часов до церемонии, а Фонд Нобеля не был извещен о происшествии своевременно. Допускались и некоторые другие отступления от «нобелевских» правил. Например, Александр Флеминг открыл пенициллин в 1928 году, а премия ему и его соавторам была присуждена только в 1945 году, после того полученный ими антибиотик спас во время войны десятки тысяч жизней. В наши дни премия все чаще присуждается с задержкой на несколько десятилетий – после того, как жизнь доказывает, а научное сообщество подтверждает практическую значимость открытия.

Организации, которые присуждают награды: Шведская королевская академия наук (премии по физике, химии и

экономике), Королевский Каролинский медико-хирургический институт (премия по физиологии или медицине) и Норвежский Нобелевский комитет, назначаемый парламентом Норвегии (премия мира).

При академиях и институте работают нобелевские комитеты, которые играют решающую роль в отборе кандидатов в лауреаты. Каждый комитет состоит из пяти человек, это специалисты из различных областей. Нобелевские комитеты предоставляют право отдельным лицам, среди которых много лауреатов прошлых лет, выдвигать претендентов. Комитеты ежегодно определяют этих «судей».

В каждой номинации может выдвигаться до 300 кандидатов. После тщательной подготовительной работы, в которой участвуют тысячи специалистов, нобелевские комитеты передают свои рекомендации в организации, которые присуждают награды на ассамблеях. Исключение – лауреаты премии мира, которых определяет сам Норвежский Нобелевский комитет. Часто кандидаты получают премию после нескольких выдвижений.

Нобелевская премия состоит из золотой медали, диплома и значительного денежного вознаграждения. На лицевой стороне медали изображен портрет Нобеля, на обратной – композиция, символизирующая ту или иную номинацию, здесь же выгравировано имя лауреата. На медали нобелевскому лауреату в области физиологии или медицины изображена женщина с раскрытой книгой на коленях, которая придерживает больную девочку и собирает для нее льющуюся из камня воду.

Первое вручение Нобелевской премии состоялось в 1901 году. С 1901 по 2019 год во всех номинациях было вручено 597 премий. Всего в мире 943 нобелевских лауреатов, в том числе 24 организации. В области физиологии или медицины этой чести удостоились 219 ученых, общее число наград – 110. Самый пожилой нобелевский лауреат – Артур Эшкин: в 2018 году он получил премию за открытие в физике в возрасте 96 лет. Самый молодой в мире лауреат Малала Юсуфзай: на момент награждения премией мира в 2014 году ей было всего 17 лет.

Рис. 1. Нобелевская медаль по физиологии или медицине

То, какой стране «принадлежит» награда, определяется официальными документами учредителей премии. Например, российскими нобелевскими лауреатами считают граждан, имевших на момент вручения премии подданство Российской империи, гражданство СССР или Российской Федерации. Так что россияне могут гордиться 16 нобелевскими наградами, которые получил 21 лауреат. В их числе двое ученых с мировым именем в области физиологии и медицины – Иван Петрович Павлов (1904 год) и Илья Ильич Мечников (1908 год).

Существует немало наук, «обделенных» Нобелевской премией: например, география, геофизика, океанология. Возникают новые отрасли науки, которые тоже заслуживают признания и поощрения. Бурное развитие науки привело к тому, что число открытий и достижений «нобелевского уровня» существенно выросло. Поэтому Нобелевская премия приобретает еще большее значение, ведь она формирует научные эталоны, задает ориентиры как прагматического, так и морально-этического характера.

По физиологии или медицине, а именно так звучит точный перевод нобелевской номинации, о которой идет речь в этой книге, вручено на момент ее написания 210 премий 219 лауреатам. Из них мы отобрали 30 – те, которые широко используются, значение которых известно каждому, а суть понятна человеку без специального образования – просто небезразличному к медицине и собственному здоровью. Логику открытий легче проследить, если рассказывать о работах нобелевских лауреатов не в строго хронологическом порядке, а объединив их по темам. Так мы и сделали, распределив открытия по разным главам, посвященным физиологии, генетике,

патогенам, медицинским методам, фармакологии… А вот уже внутри глав мы соблюдали хронологию. Поэтому чтение нашей книги можно начать с любой главы – с той темы, которая вам кажется самой интересной.

Ученые, получившие мировое признание, по-разному пришли к своим открытиям. Например, путь Роберта Коха, основоположника немецкой школы бактериологии, начался с того, что жена подарила ему на 28-летие хороший микроскоп. После этого Роберт оставил не очень удачную карьеру врача и разработал три революционных метода исследования микробов. Эти методы принесли ему славу. Микрофотографии, которые Кох делал во время работы, не только произвели неизгладимое впечатление на его современников, они позволили ученому описать возбудителей сибирской язвы, туберкулеза и холеры.

Фундаментальное открытие XX века произошло, по признанию его автора Александра Флеминга, благодаря удаче, случайному наблюдению и некоторой неопрятности. Уезжая на месяц в отпуск, британский бактериолог Флеминг забыл убрать в холодильник несколько чашек Петри с посевами стафилококка. Вернувшись, ученый хотел вымыть лабораторную посуду, но залюбовался ее содержимым: многослойная роскошная пленка из миллиардов бактериальных клеток стафилококка, заполнившая всю чашку Петри, в одном месте отсутствовала – как будто ей что-то мешало расти там. Мертвая зона возникла вокруг грибка *Penicillium*, то есть обычной хлебной плесени: питавшийся агар-агаром грибок выработал некое вещество, убившее стафилококк. Флеминг назвал это вещество пенициллином – так началась эра антибиотиков, спасших миллионы жизней. Они продолжат с успехом делать это, если не применять их бездумно.

Впрочем, открытие, совершенное Флемингом в 1928 году, сразу не оценили. Оно было забыто до начала Второй мировой войны. Тогда срочно потребовались эффективные антибактериальные средства, в противном случае десятки тысяч солдат могли погибнуть от боевых ран, осложнений от пневмонии, инфекций брюшной полости, мочевых путей и кожи. Поэтому в 1940 году команда, собравшаяся на факультете патологии Оксфордского университета под руководством Хоуарда Флори и Эрнста Чейна, начала искать способы выделения и концентрации для производства пенициллина в больших количествах. Вскоре были найден штамм, который производил пенициллин в достаточных количествах. Медицина получила мощное лекарство, а Флеминг, Флори и Чейн Нобелевскую премию.

Примеров совместного научного сотворчества в истории

Нобелевской премии по физиологии или медицине с каждым десятилетием становится все больше. Все чаще премию получает не исследователь-одиночка, а команда единомышленников. Правда, по завещанию Нобеля их количество ограничено тремя.

Иногда для того, чтобы произошло новое открытие, объединялись не люди, а методы. Например, биологи начали пристально изучать клетку еще в середине XIX века. Но до середины XX века, пока самым точным инструментом в их работе был обычный световой микроскоп, они при всем желании не могли изучить ее морфологию и химический состав. Перелом наступил в середине 1940-х годов с появлением двух новых технологий. Во-первых, был изобретен электронный микроскоп, его возможности значительно превосходили то, что мог дать световой микроскоп. Это позволило изучить клеточные структуры. Во-вторых, была разработана методика химического анализа тех веществ, которые можно было увидеть под электронным микроскопом. Это происходило так. Гомогенизированные ткани или клетки разделяли в центрифуге на компоненты, сходные по размеру и весу. Центрифугирование ускоряло осаждение клеточных органелл с разным весом: на дне пробирки оказывались ядра, над ними все остальные органеллы, каждая – в своей фракции, которую можно было выделить и изучить. Эта процедура, названная дифференциальным центрифугированием, дополнила структурные исследования с помощью электронного микроскопа. В результате Кристиан де Дюв подробно изучил клетку и составил ее схему, которую до сих пор можно увидеть во всех учебниках по биологии.

Когда знакомишься с историями нобелевских лауреатов, поражает то, с какой самоотверженностью врачи и физиологи готовы были поручиться за верность своих идей собственным здоровьем и даже жизнью. Следуя примеру Вернера Форсмана, который в начале XX века бесстрашно ввел катетер в собственное сердце, чтобы доказать безопасность подобных операций, уже в наше время молодой ученый Барри Маршалл стал добровольцем для собственных исследований. Чтобы опровергнуть широко распространенный миф о том, что гастрит возникает от стресса и неправильного питания, Барри выпил содержимое чашки Петри с культурой бактерии Хеликобактер пилори (*Helicobacter pylori*). После этого у него развился гастрит, а бактерия была обнаружена в слизистой его желудка. Барри не остановился на полпути и дважды подверг себя малоприятной процедуре эндоскопии. Но и на этом он не закончил эксперимент на самом себе. Маршалл прошел двухнедельный курс терапии и вылечился, доказав тем самым, что антибиотики эффективны в лечении многих, если не

большинства, случаев гастрита, язв желудка и двенадцатиперстной кишки.

Просмотрев список нобелевских лауреатов, можно сделать однозначный вывод: чтобы стать одним из них, надо нести в своем геноме половые хромосомы XY, то есть быть мужчиной. Вы можете проповедовать идею гендерного равенства, но хладнокровная статистика легко опрокинет ваши доводы, потому что мужчин, среди получивших Нобелевскую премию, – абсолютное большинство. Это связано с особенностями отбора лауреатов и вручения премии. Нобелевский комитет отмечает работы, совершенные некоторое время назад: ведь сначала должен завершиться период проверки и подтверждения открытий. А ведь еще 30 и даже 20 лет назад в научной среде подавляющего числа стран было намного меньше женщин, чем сейчас, а предубеждений против них, наоборот, было не в пример больше.

За год до присуждения премии Нобелевский комитет рассылает тысячам экспертов со всего мира запросы на номинирование в каждой области. На основании их ответов отбирают около 300 возможных лауреатов. Таким образом, Нобелевский комитет ограничен в своем выборе мнением экспертов, а те в основном рекомендуют к награде открытия, совершенные мужчинами. Длительным периодом проверки и подтверждения открытий можно объяснить и то, почему номинируют в основном ученых весьма солидного возраста.

Однако гендерные предрассудки в скором времени, скорее всего, уйдут в прошлое, и среди портретов нобелевских лауреатов появится больше симпатичных женских лиц. В этом отношении область физиологии и медицины всегда была чуть впереди других номинаций: мы можем гордиться двенадцатью женщинами-лауреатами.

После прочтения этой книги вам откроется стройная и логичная картина преемственности научной мысли, где в результате нелепых случайностей могут пропасть гениальные прозрения. Вы сможете сделать собственные маленькие открытия: например, поймете, как появилась кардиография и что видит врач, рассматривая вашу ЭКГ. Мы расскажем, почему не надо лечиться, если обнаружен вирус папилломы человека, и вообще попробуем объяснить, что представляют собой практически все медицинские обследования и распространенные тактики лечения. А вы, узнав о фундаментальных научных открытиях, наверняка овладеете основами знаний о физиологии человека и медицине. Надеемся, что вы извлечете из этой книги пользу.

ГЛАВА 1. Столетний путь физиологии: от фагоцитоза до аутофагии

Условно и безусловно: это рефлексы

Иван Петрович Павлов

Первым российским ученым, который получил Нобелевскую премию за открытие в области физиологии и медицины, был Иван Петрович Павлов. Надо сказать, что таких людей, как он, рождается очень мало. Павлов был настоящим ученым и гуманистом – активным, ищущим, честным. Что мы знаем о нем? По открытому самим Павловым принципу условного рефлекса наш мозг рефлекторно реагирует на это имя подсказкой: собака Павлова.

Уже во время проведения самых ранних физиологических исследований Ивана Петровича волновали две принципиальные вещи: чистота эксперимента (что позволяло ему получать обоснованные и воспроизводимые данные) и гуманное отношение к животным. В своей нобелевской лекции на получении премии в 1904 году, он так описывал свою работу с собаками: «…мы должны были точно придерживаться всех предписаний, которые хирурги устанавливают в отношении своих пациентов. Здесь также должны были применяться подходящий наркоз, тщательная чистота при операции, чистые помещения после операции и заботливый уход за раной… Только при этих условиях наши результаты могли считаться абсолютно доказательными и могли разъяснить нормальный ход явлений. Это нам удалось благодаря правильной оценке вызванных в организме изменений и целесообразно принятым мерам; наши здоровые и весело выглядевшие животные выполняли свою лабораторную службу с истинной радостью, постоянно стремились из своих клеток в лабораторию, вскакивали сами на стол, на котором ставились все опыты и наблюдения над ними. Прошу мне поверить, что я ничуть не преувеличиваю. Благодаря нашей хирургической методике в физиологии мы сейчас можем в любое время продемонстрировать относящиеся к пищеварению методики без пролития хотя бы единой капли крови и без единого крика подопытного животного».

Несмотря на то что имя Ивана Петровича Павлова широко известно, а собаке Павлова поставлен памятник и даже есть одноименное сообщество в фейсбуке, в школе изучают только небольшую часть работ этого ученого – и, собственно, не совсем ту, за которую ему была вручена Нобелевская премия. Мы не зря начали эту главу с большой цитаты академика Павлова. Человеку, далекому от науки, эксперименты над животными могут

показаться жестокими. Поэтому о них не напишут ничего хорошего журналисты и умолчат школьные учебники. Один из авторов этой книги несколько лет работал с экспериментальными моделями – мышами и крысами, помогая врачам найти способ оптимального лечения лимфобластных лейкозов у детей и взрослых. Эксперименты не обходились без забоя животных и последующего изучения их внутренних органов. Только осознание того, что все это делается ради продления жизни больных с тяжелыми заболеваниями крови, позволяло работать без постоянного тяжелого раскаяния. Возможно, академик Павлов испытывал похожие чувства, естественные для любого нормального человека, поэтому он уделял особое внимание гуманному обращению с животными.

В ходе экспериментов по изучению пищеварения он открыл особенности высшей нервной деятельности, известные как условные рефлексы. В 20–30-х годах прошлого века он был неоднократно повторно номинирован на Нобелевскую премию, но вручена она была только один раз «за исследование функций главных пищеварительных желез». Экспериментальной моделью для ученого служили собаки с разобщенными отделами пищеварительной системы. Их Павлов оперировал сам и в процессе виртуозно овладел оперативной техникой.

Классический павловский эксперимент был проведен на собаке, пищевод которой был разобщен, а оба его конца вшиты в кожу шеи. Пища не могла естественным путем продвигаться по пищеварительному тракту и выпадала наружу. Одновременно из желудка через металлическую трубку вытекал выделявшийся желудочный сок. То есть при кормлении пища не попадала в желудок собаки, но тем не менее желудочный сок вырабатывался. Эксперимент ясно доказал, что процесс пищеварения регулируется центральной нервной системой.

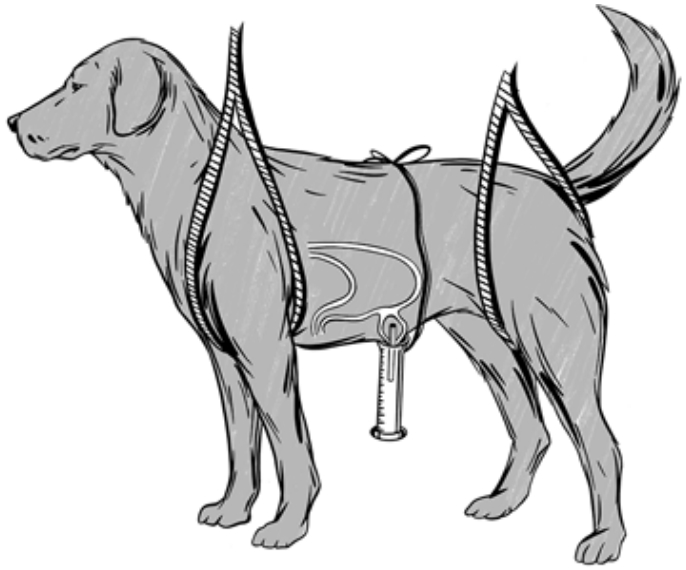


Рис. 2. Схема опыта сбора желудочного сока у собак с павловским желудочком

Позже Иван Петрович усовершенствовал этот эксперимент: сформировал в желудке собаки особый карман, названный позднее «павловским желудочком», чтобы изучать состав выделяющегося секрета при кормлении разной пищей. Выведя наружу слюнные железы, он изучал состав и консистенцию слюны при попадании в пищеварительный канал различных веществ: съедобных и несъедобных, сухих и жидких. Он заметил, что слюнные железы при этом работали по-разному. Они производили больше или меньше слюны, вязкой или жидкой, и ее состав также был каждый раз особым. Так же ведут себя и железы, вырабатывающие желудочный сок. Например, когда мы едим хлеб, наш желудочный сок богат ферментами и наименее кислый. В ответ на молоко вырабатывается сок с наименьшей концентрацией ферментов, а на мясо – наиболее кислый желудочный сок. Причем в первом случае концентрация ферментов будет в два-четыре раза больше, чем во втором и третьем. Фистула, вживленная в желудок собаки и в просвет слюнной железы, позволяла измерить количество и состав желудочного сока и слюны, выделяемых в ответ на разные виды пищи. Прооперированная собака, чучело которой хранится в музее-усадьбе ученого, прожила несколько лет и умерла от старости.

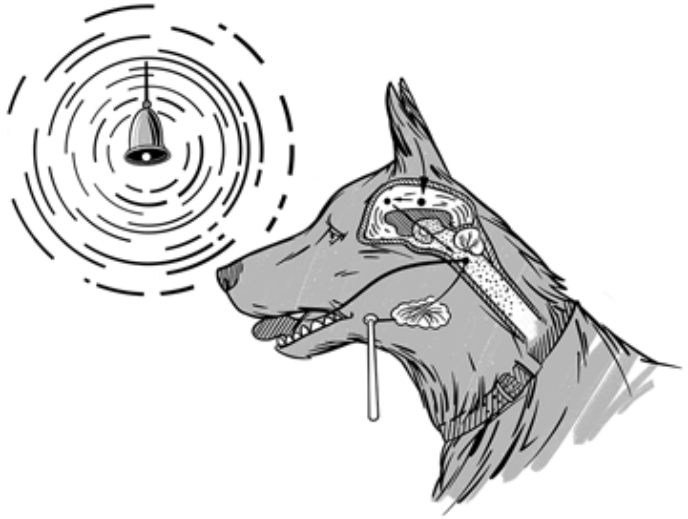


Рис. 3. Подопытная собака с фистулой из желудка и слюнных желез

Основываясь на наблюдениях за экспериментальными моделями с выведенными наружу слюнными железами, Иван Петрович Павлов продолжил исследования, которые в результате привели его к открытию условных рефлексов. Оказалось, что условный рефлекс с выделением слюны можно сформировать на многие раздражители: не только на загорающуюся лампочку или определенный звук, но и на любой запах и даже на появление служителя, который приносит еду. Все это возбуждает слюнную железу, как и вид и запах пищи. Основное условие – совпадение по времени. Один рефлекс – прирожденный, видовой, постоянный, стереотипный – Павлов назвал безусловным, а рефлекс, формируемый на его основе, – условным, так как он зависит от многих условий. С введением понятий о безусловном и условном рефлексах физиология приобрела новую огромную область исследований, а Павлов стал лауреатом Нобелевской премии «за работу по физиологии пищеварения».

«Собака Павлова» стала экспериментальной моделью, работа с ней продолжилась и после присуждения Нобелевской премии. Если раньше Павлов ставил задачу сформировать условный рефлекс на нейтральный раздражитель и дать его точное описание, то теперь он исследовал процессы торможения и возбуждения нервной системы. Изучил он и роль этих процессов в анализе окружающей среды, и значение сигналов, поступающих от внутренних органов. Павлов описал возможности центральной нервной системы находить баланс между внешними сигналами и

потребностями организма, а также доказал, что нарушение этого равновесия приводит к психическим заболеваниям. Для этого он экспериментально формировал неврозы у подопытных животных и находил способы их терапии. Благодаря этим исследованиям Иван Петрович Павлов объяснил механизм ряда психических заболеваний и их лечения.

Эксперименты Павлова привели к множеству важных открытий, имевших клиническое значение. Среди них были и те, что получили впоследствии Нобелевскую премию. Об одном из таких открытий вы можете прочитать в главе «Диета против анемии». На стыке XIX и XX веков ученые считали, что желчные пигменты образуются исключительно из гемоглобина эритроцитов и что этот процесс происходит только в печени. Будущий нобелевский лауреат Джордж Уиппл усомнился в том, что печень – единственный орган, синтезирующий желчь. В 1911 году в лаборатории профессора фармакологии Ганса Мейера в Вене он овладел техникой наложения фистулы Экка. Этот позволяло направлять кровь от кишечника в обход печени. Сочетая метод Экка с лигированием (перевязкой) печеночных артерий, Уиппл вместе со своими талантливыми помощниками-медиками смог выключить печень из системы кровообращения. А затем они наблюдали, как введенный в кровеносное русло гемоглобин в течение одного-двух часов превращался в желчные пигменты. Это превращение происходило даже при прекращении кровотока в селезенке и кишечнике – за счет распада гемоглобина в кровеносном русле. Таким образом было доказано, что в экспериментальных условиях возможно образование желчных пигментов без участия печени. Однако в жизни печень играет главную роль в их выработке.

В конце 2017 года в Рунете широко обсуждался ролик, в котором вице-премьер Рогозин «топил» таксу, чтобы продемонстрировать президенту Сербии новое открытие Роскосмоса – насыщенную кислородом жидкость, в которой можно дышать. На самом деле с животным обошлись достаточно гуманно, но и последователем Павлова по отношению к подопытным собакам вице-премьера назвать нельзя. Ведь одно дело – манипуляции с живым (и страшно напуганным) существом «на камеру», а другое – научные эксперименты, которые приносят огромную пользу в деле лечения людей. И в конце концов, стоило бы пощадить чувства граждан, далеких от лабораторных реалий и физиологических экспериментов.

Прошло больше ста лет с момента присуждения Нобелевской премии нашему соотечественнику Ивану Петровичу Павлову, но открытие его оказалось настолько фундаментальным, что и в XXI

веке продолжают ставить эксперименты, похожие на павловские, и получают результаты, актуальные для многих из нас. Например, одно из исследований показало, как наш мозг мешает нам похудеть и почему некоторым счастливчикам это удается без труда. Все дело – в тех самых условных рефлексах на пищу, сходных у собаки, человека и крысы.

В 2006 году в Институте молекулярной и поведенческой неврологии Университета штата Мичиган физиолог Шелли Флагел представила красноречивые результаты эксперимента на крысах. Животных посадили в ящики. Внутри стояла кормушка, а в отверстие в стенке был вставлен стержень.

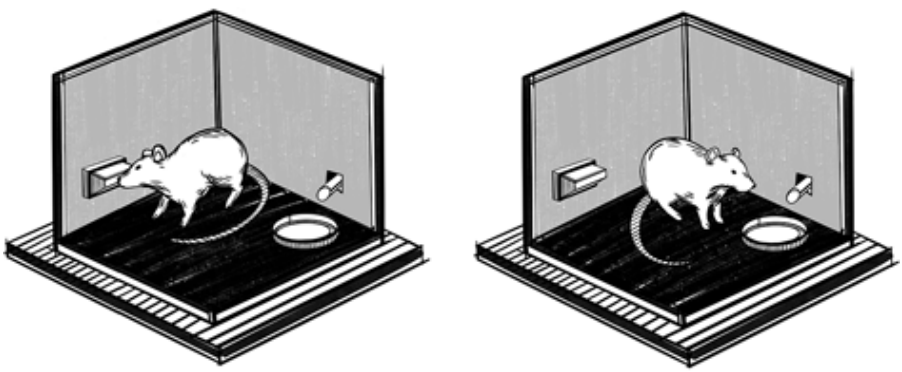


Рис. 4. Эксперимент по формированию условного рефлекса у крыс

Время от времени стержень резко входил внутрь ящика, оставался в таком положении восемь секунд, а затем выдвигался обратно. Сразу после этого в миску насыпался корм. У крыс быстро сформировался условный рефлекс, связавший движение стержня и кормежку. Когда стержень появлялся в ящике, одни крысы немедленно бежали к миске в ожидании еды, и это было ожидаемо. А вот другие животные вели себя непредсказуемо: они бежали не к кормушке, а к стержню, терлись об него, нюхали и всячески выражали ему свое расположение. Мозг крыс выбрасывал в кровь дофамин в ответ на появление стержня, в результате их жизнь концентрировалась вокруг холодного бездушного предмета, который не мог ни напоить, ни накормить их. Они стали зависимы от определенного сигнала, который ассоциировался с едой.

Для нас, людей, это означает, что еда часто перестает для нас быть средством получения энергии, потому что мозг больше реагирует не на саму еду, а на знаки, связанные с ней: желтую эмблему «М», логотип Baskin-Robbins или вывеску Starbucks.

Рекламщики используют физиологические особенности нашего мозга, чтобы продать нам больше, заставить заглянуть в кафешку быстрого обслуживания, когда мы не голодны. Но даже когда мы дома бредем на кухню и открываем холодильник, то часто делаем это не потому, что хотим есть, а потому, что нам скучно, одиноко, страшно, грустно. Мы делаем это, когда злимся, чувствуем неуверенность или отчаяние или, наоборот, полны радости и счастья. «Заедание эмоций» сегодня настолько распространено, что в мире зафиксирована эпидемия ожирения. Чтобы ослабить давление на наши дофаминовые рецепторы, заново формируя условные рефлексы, приходится опять учиться распознавать сигналы голода и, таким образом, не набирать лишний вес.

Открытие иммунитета

Илья Ильич Мечников
Пауль Эрлих

Свой путь в науке Илья Ильич Мечников – один из двух русских ученых, получивших Нобелевскую премию по физиологии и медицине, – начинал с изучения низших животных, которые представляли интерес лишь для зоологов. Однако, наблюдая за червями и моллюсками, Мечников подметил, что вне зависимости от того, обладают ли эти животные сформировавшейся пищеварительной полостью или нет, их клетки способны поглощать и переваривать пищевые частицы. Уже начиная с середины 60-х годов XIX века в его публикациях прослеживается главная тема: внутриклеточное пищеварение. Так кем был Илья Мечников – зоологом, микробиологом, патологом, демографом, геронтологом, философом, врачом, эпидемиологом или психоаналитиком? Спойлер: все ответы верны.

А начиналось все с простого эксперимента. Изучая прозрачное тело личинки морской звезды, молодой Илья Ильич погрузил в нее шипы розы. На следующий день он увидел, что блуждающие клетки личинки окружили эти «занозы» и пытаются поглотить их. Увиденное захватило Мечникова. Проанализировав результаты эксперимента, он сделал общебиологический вывод, легший в основу клеточной теории иммунитета. Последующее 25 лет своей научной работы Илья Ильич посвятил разработке проблемы фагоцитоза и его роли в борьбе с инфекцией. Не исключено, что толчком к поиску механизмов защиты от инфекционных заболеваний для Ильи Мечникова стало трагическое событие. Его горячо любимая жена умерла от чахотки – так раньше называли туберкулез. Илья Ильич тяжело переносил утрату, но его научное вдохновение не дало ему окончательно впасть в депрессию. Он задался вопросом: почему бы клеткам, «умеющим» переваривать питательные вещества, не использовать эту способность в борьбе с чужеродными для организма агентами, в первую очередь – с микробами?

Впервые применив сравнительно-эволюционный подход сначала в биологии, а затем в патологии, Мечников сделал шаг к открытию и оценке фагоцитоза. Фагоцитарная теория была изложена им в статье «Untersuchungen über die intrazelluläre Verdauung bei wirbellosen Tieren» (Исследования внутриклеточного пищеварения у беспозвоночных // Труды зоологического института в Вене, 1883 год). Собственно, слово

«фагоцитоз» Илья Ильич стал употреблять в более поздних публикациях. Однако тщательные исследования показали, что впервые оно прозвучало все-таки по-русски – в докладе, сделанном им в Одессе на съезде русских естествоиспытателей и врачей еще в 1882 году.

Как инфекционный агент попадает в организм? Это нелегко: он должен пройти несколько линий защиты.

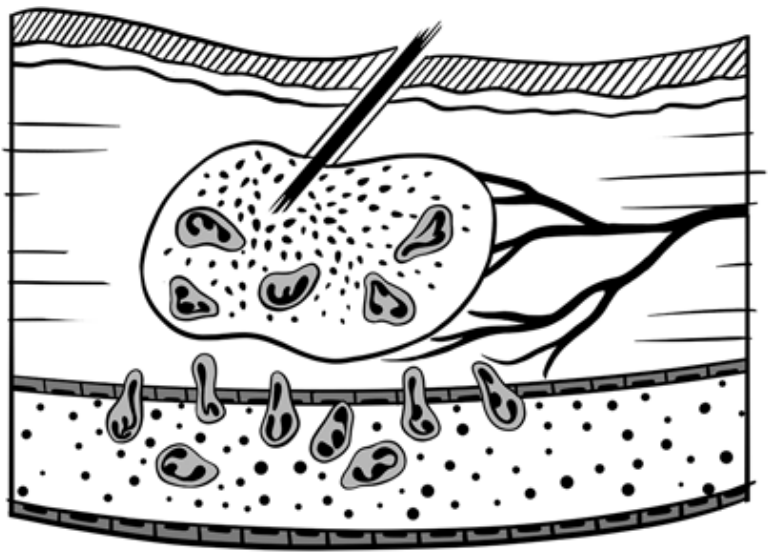


Рис. 5. Личинка морской звезды с занозой

Сначала – кожу и слизистые, обладающие бактерицидным действием: если они не повреждены, большинство микробов не способно проникнуть внутрь. Если это все же случилось, то уже за пределами кожи и слизистой микроб может стать добычей фагоцита. Эта клетка окружает чужеродный агент, захватывает его и тянет в свою цитоплазму. Доставив агент к своей пищеварительной станции, клетка обезвреживает и переваривает жертву.

До этого в ученых кругах была популярна гуморальная теория: считалось, что обеззараживающими свойствами обладают только некоторые особые вещества, циркулирующие во внутренней среде организма. Илья Ильич не противопоставлял гуморальный иммунитет и способность клеток к фагоцитозу. Современные научные открытия подтвердили, что клетки, способные к фагоцитозу, обладают иммунологической памятью: при повторном попадании в организм того же самого возбудителя они узнают его и быстрее вступают в борьбу с ним. Затем организм вырабатывает антитела – своего рода противоядие к

микробам и их токсинам, – это следующая линия защиты. Одновременно некоторые виды антител воздействуют на инфекционный агент, делая его более «доступным» для фагоцитов.

Пауль Эрлих, второй нобелевский лауреат, получивший премию одновременно с Ильей Ильичом Мечниковым, искал оружие иммунной системы в крови. Он сформулировал теорию, объяснявшую, как антитела ищут бактерии и нейтрализуют их токсичное действие. Вдохновение Эрлих черпал из популярной химической гипотезы о том, что фермент и вещество, на которое он действует, подходят друг другу, как замок и ключ. Эрлих представлял себе клетку, окруженную выступающими боковыми цепями, через которые она получает питательные вещества и другие нужные ей материалы. Суть теории Пауля Эрлиха заключается в том, что благодаря дополнительным боковым цепям, клетки могут противостоять любой бактериальной атаке. Отрываясь от исходной клетки и циркулируя в кровяном русле, боковые цепи антител специфическим образом связываются с ядами, которые выделяют бактерии, и деактивируют их. Таким образом организм защищается от болезнетворного действия бактерий.

Пути, которыми два лауреата Нобелевской премии 1908 года по физиологии или медицине шли к ответу на вопрос о природе иммунитета, были разными. Однако вместе Илья Мечников и Пауль Эрлих показали, что «система обороны» нашего организма обладает более чем одним инструментом защиты. Таким образом, клеточный и гуморальный механизмы иммунитета дополнили друг друга. Именно это открытие и было отмечено Нобелевской премией в качестве «признания работ по иммунитету»[1].

Имя Мечникова часто связывают с другой темой, которая его увлекала, а именно с влиянием обитателей кишечника на здоровье, мышление и старение человека. С подачи Мечникова их стали называть микрофлорой кишечника. После более пристального изучения микрофлоры оказалось, что растений (флоры) там нет, а есть бактерии, вирусы и грибки, поэтому их в совокупности стали называть микробиомом, или микробиотой. Илья Ильич считал, что старение организма связано с деятельностью микрофлоры: самоотравлением микробными и другими ядами, образующимися в пищеварительном тракте. Для борьбы с ними Мечников исследовал так называемую болгарскую молочнокислую палочку (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus)*. Полученный под ее действием кисломолочный продукт широко известен под названием «мечниковская простокваша» и применяется до сих пор. Удивительно, что через 110 лет после

опубликования программной статьи Мечникова на эту тему его предположения обрели широкую популярность. Не исключено, что скоро микробиоту будут считать нашим вторым мозгом, определяющим, например, поведение и мотивацию человека – то, что раньше относилось исключительно к высшей нервной деятельности.

Нобелевская премия 1908 года застала Илью Ильича Мечникова в Париже. В этом городе он провел несколько плодотворнейших десятилетий, возглавляя Институт Пастера. Мечников умер во Франции, завещав свое тело науке. Согласно воле покойного, после исследований оно было кремировано. Сегодня прах Мечникова покоится в помещении старой библиотеки Института Пастера.

Кто разделил кровь на группы?

Карл Ландштейнер

Кровь, которая на первый взгляд у всех людей одинакова, в древности считалась мистической субстанцией и совершенно справедливо связывалась с жизненной силой. После того как в 1628 году английский врач Уильям Гарвей открыл циркуляцию крови, доктора стали делать попытки ее переливания. Через 30 лет появилась первая достоверная запись об успешном переливании крови от одной собаки другой. Недолгое время людям пытались переливать кровь животных. К счастью, эти эксперименты были запрещены. Только полтора века спустя, в 1818 году, соотечественник Гарвея, акушер Джеймс Бланделл, начал спасать жизни рожениц с послеродовым кровотечением. Выживала добрая половина женщин. Тогда это было огромным шагом вперед, но оставалось непонятным, почему погибает вторая половина его пациенток. В 1840 году прошло успешное переливание цельной крови для лечения гемофилии. Это генетическое заболевание связано с несвертываемостью крови: любая, даже маленькая ранка приводит к медленной, но неуклонной кровопотере вплоть до смерти больного.

В 1901 году в австрийском медицинском журнале *Wiener klinische Wochenschrift* (Венский клинический еженедельник) вышла статья ассистента кафедры патанатомии Венского университета Карла Ландштейнера «О явлениях агглютинации нормальной крови человека». В ней были ответы на вопрос о том, почему переливание крови, которое в одних случаях творит чудеса и спасает жизни, в других случаях убивает. Это знание превратило переливание крови из «русской рулетки» в рядовую медицинскую процедуру. Молодой ученый, обнаруживший, что человеческая кровь делится на четыре группы, был удостоен Нобелевской премии 1930 года по медицине с формулировкой «За открытие групп крови человека».

Карл Ландштейнер начал путь к своему открытию с изучения механизма работы иммунитета и природы антител. Очень быстро, всего за год, он описал процесс агглютинирования (склеивания) лабораторных культур бактерий, к которым добавили сыворотку крови. Зимой 1900 года Ландштейнер взял образцы крови у себя и пяти своих коллег, при помощи центрифуги отделил сыворотку от эритроцитов и принялся смешивать ее в различных сочетаниях. Выяснилось, что сыворотка крови доктора Плетчинга склеила эритроциты доктора Штурли. И наоборот. Это позволило

экспериментатору предположить, что существует как минимум два вида антител. Ландштейнер дал им наименования А и В. В собственной крови ученый не обнаружил ни тех, ни других и предположил, что есть еще и третий вид антител. Исходя из этого, Ландштайнер сделал вывод, что кровь бывает трех групп, известных теперь как А, В и 0 (четвертая группа АВ была обнаружена через пару лет его учеником). Более детальное исследование показало, что каждая группа отличается по наличию или отсутствию определенного набора молекул, или антигенов, на поверхности эритроцитов. Проанализировав полученные данные, молодой ученый сформулировал закон, известный как знаменитое «правило Ландштейнера», легшее в основу трансфузиологии: «В организме человека антиген группы крови (агглютиноген) и антитела к нему (агглютинины) никогда не сосуществуют».

Суть в том, что эритроциты группы А несли антиген А, эритроциты группы В – антиген В, а его собственные эритроциты не несли ни одного из этих антигенов. В крови большинства людей изначально содержатся готовые антитела к антигенам А и В чужих эритроцитов. Поэтому, если перелить человеку кровь группы, отличной от его собственной, то при встрече антител с соответствующими им антигенами произойдет реакция агглютинации (склеивания) между ними. В результате агглютинированные эритроциты закупорят капилляры, нарушат кровоток в жизненно важных органах, прежде всего в почках, что может привести к смерти.

Открытие Ландштейнера сначала не нашло в научном сообществе должного отклика – возможно, из-за скромного, «кабинетного» характера первооткрывателя. Это привело к тому, что группы крови еще несколько раз «переоткрыли». В 1907 году чех Ян Янский назвал группы крови I, II, III и IV по частоте, с которой они встречались. А американец Уильям Мосс из Балтимора в 1910 году описал четыре группы крови в обратном порядке – IV, III, II и I. Номенклатура Мосса широко использовалась, например, в Англии, и когда она встречалась с номенклатурой Янского, это приводило к серьезным проблемам.

Путаница прекратилась, когда в 1937 году на съезде Международного общества переливания крови в Париже была принята нынешняя терминология «АВ0», в которой группы крови именуются 0 (I), А (II), В (III), АВ (IV). Собственно, это и есть терминология Ландштейнера, к которой добавилась четвертая группа.

Это открытие кардинально повлияло на многие сферы жизни. Во-первых, оно свело к минимуму риск при переливании крови и

спасло множество жизней – особенно во время войны. Заблаговременное определение группы крови возможного донора и реципиента предупреждало трансфузии несовместимой крови и смерти солдата.

Во-вторых, криминалисты получили новый полезный инструмент для расследования. Оказалось, что определение группы возможно даже в незначительном количестве засохшей крови, оставленной на месте преступления. Это стало серьезным подспорьем для судебной медицины.

В-третьих, как только исследователи поняли, что группы крови наследуются из поколения в поколение, открытие Ландштейнера взяли на вооружение антропологи. Они стали выяснять, как распределение групп крови варьируется по географическим зонам, и делать выводы о происходивших в доисторические времена перемещениях народов. А эпидемиологи нашли прямую зависимость между группой крови, распространенной в той или иной зоне, и стойкостью иммунитета к инфекционным заболеваниям, таким как чума и оспа.

В-четвертых, стало возможным с определенной долей достоверности определение отцовства. Сравнивая группу крови ребенка (X) и предполагаемого отца (Y), можно дать один из двух ответов: «Y может быть отцом X» или «Y не может быть отцом X». Более точный и развернутый ответ дают результаты сравнения ДНК ребенка и предполагаемого отца, но это стало возможным только в последние десятилетия, и метод из-за его дороговизны применяют редко.

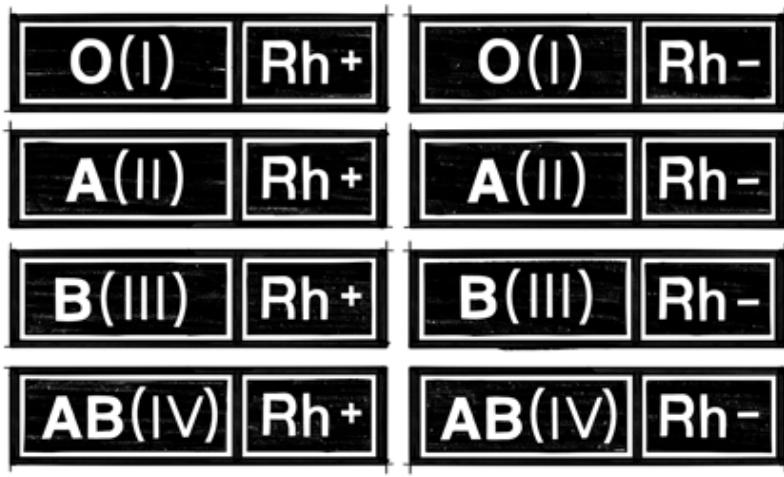


Рис. 6. Обозначение группы крови и резус-фактора у военных находится на груди, а не на рукаве, как поется в известной песне. Это сделано потому, что при ранениях во время боевых действий иногда сильно повреждаются конечности. По той же причине и татуировки с группой крови чаще делают не на руке, а, например, на боку.

Сегодня изучены и охарактеризованы десятки групповых антигенных систем крови, таких как системы Даффи, Келл, Кидд, Льюис, Лютеран и др. Их количество постоянно растет, однако основной по-прежнему остается классификация группы крови, предложенная Карлом Ландштейнером.

Сам Ландштейнер уже после своего открытия продолжал работать над совершенствованием классификации крови. В 1939 году, в возрасте 70 лет, он получил звание «Почетный профессор в отставке», продолжил исследовательскую деятельность и через год вместе с коллегами-учениками Александром Винером и Филиппом Левиным открыл резус-фактор крови человека. Параллельно исследователи выявили связь между ним и развитием гемолитической желтухи у новорожденных: резус-положительный плод может вызывать у матери выработку антител против резус-фактора, а это приводит к гемолизу эритроцитов, превращению гемоглобина в билирубин и развитию желтухи. Раньше такие дети чаще всего погибали. Чтобы спасти их, акушеры-гинекологи и неонатологи принимают превентивные меры, применяя полное заместительное переливание крови.

С чего начинается пищеварение

Кристиан де Дюв
Альбер Клод
Джордж Паладе

Некоторые книги могут повлиять на наш профессиональный или жизненный путь. Так, для одного из авторов этого издания стала решающей встреча с «Путешествием в мир живой клетки» известного бельгийского биолога, лауреата Нобелевской премии Кристиана де Дюва. Эту книгу Ольга Шестова прочитала еще в школе. Автор предлагал читателям вообразить, как они сжимаются до размера, меньшего самой мелкой органеллы клетки. Далее Кристиан де Дюв советовал мысленно надеть защитный костюм – нечто среднее между скафандром, формой пожарника и снаряжением водолаза, – протиснуться сквозь отверстия в мембране клетки и оказаться в ее цитоплазме, чтобы совершить путешествие, полное опасностей. Особенно Ольгу поразило приближение к лизосомам, грозящим растворить «чужаков» в своем содержимом – едком, наполненном ферментами, разлагающими белки на составные части. Связь клеточной биологии и медицины, описанная в книге де Дюва, так увлекла юную Ольгу, что она поступила на биологический факультет МГУ, а позже защитила диссертацию на медицинскую тему.

Книга Кристиана де Дюва была основана на его открытии. Вместе со своими коллегами Альбером Клодом и Джорджем Паладе он получил за него в 1974 году Нобелевскую премию: «За открытия, касающиеся структурной и функциональной организации клетки».

Клетку начали пристально изучать с середины XIX века, но силы светового микроскопа, который имелся тогда в распоряжении биологов, было недостаточно, чтобы в подробностях познакомиться со структурой и функциями ее частей. Перелом наступил в середине 1940-х годов с появлением двух новых технологий. Во-первых, электронный микроскоп с высоким разрешением, изобретенный несколькими годами ранее, позволил изучить клеточные структуры. Во-вторых, была разработана методика химического анализа веществ, которые можно было увидеть под электронным микроскопом. Для этого гомогенизированные ткани или клетки с помощью центрифуги разделяли на компоненты, сходные по размеру и весу.

Дифференциальное центрифугирование дополнило структурные исследования с помощью электронного микроскопа.

Альбер Клод, работавший в 1930–40-х годах в Рокфеллеровском университете в Нью-Йорке, был лидером в обеих прорывных технологиях: и в работе с электронным микроскопом для исследования клеток животных, и в совершенствовании дифференциального центрифугирования. Первые электронно-микроскопические снимки клеток и их компонентов, содержащие новую и актуальную биологическую информацию, были получены примерно в 1945 году. До сих пор этот метод с некоторыми усовершенствованиями остается одним из важнейших в клеточной биологии.

Молодые коллеги Клода продолжили его дело. Джордж Паладе начал с морфологического, описательного изучения области клетки, окружающей ядро, – цитоплазмы. Джордж изучал сеть мембран, которую первоначально обнаружил Клод. Такие мембраны еле заметны в световой микроскоп: это – эндоплазматический ретикулум. Исследователи показали, что ретикулум больше всего похож на пустой и многократно сложенный мешок, занимающий большую часть цитоплазмы. Палладе обнаружил и описал мелкие гранулированные компоненты (рибосомы) на наружной части складок этого мешка и открыл, что они производят (синтезируют) белок в клетке. В серии работ Паладе и его коллеги показали множество увлекательных деталей процесса производства белка. Например, то, каким образом белки, синтезируемые в клетках на рибосомах, находящихся снаружи ретикулума, попадают в пространство между его мембранами и мигрируют далее в специальную органеллу – аппарат Гольджи.

Исследования Кристиана де Дюва позволили взглянуть с другой стороны на морфологические работы Паладе, которого интересовал в первую очередь химический состав наблюдаемых клеточных структур. Начав использовать метод дифференциального центрифугирования, де Дюв стал искать распределение различных ферментов между четырьмя фракциями, полученными в результате разделения содержимого клеток в зависимости от его плотности. Это были ядра, митохондрии (источники энергии клетки), микросомы (фрагментированный эндоплазматический ретикулум) и клеточный сок. Де Дюв обнаружил, что определенные ферменты в осаждаемых фракциях не могли принадлежать ни одной из четырех известных морфологических структур: они осаждались в виде отдельного типа органелл, пятой фракции. Поскольку все ферменты этой фракции были лизирующими (то есть способными

растворять, разрушать), де Дюв предположил, что они должны быть ограничены мембраной, чтобы не повредить клетку. Его догадка подтвердилась: вещества, растворявшие мембрану, высвобождали ферменты. Благодаря электронному микроскопу стало возможно рассмотреть и идентифицировать новые клеточные органеллы. Так были открыты лизосомы и началось их пристальное изучение.

Лизосомы выполняют в клетке несколько функций. Прежде всего, они участвуют в процессах, где требуется утилизировать биологический материал. Они задействованы в защитных механизмах против бактерий, при резорбции и секреции. Обычно клетка защищена от агрессивных ферментов, ведь они надежно заключены в мембрану лизосомы. Однако иногда лизосомальные мембраны повреждаются, и тогда лизосомы становятся убийцами: происходит апоптоз, то есть самоуничтожение клетки изнутри. В медицине лизосомы хорошо изучены во многих областях. Например, существует несколько наследственных заболеваний, причина которых – дефицит лизосомальных ферментов: он приводит к накоплению трудно перевариваемых остатков в органеллах. В результате они набухают и не дают клетке нормально функционировать.

Таким образом, лауреаты 1974 года в области физиологии и медицины своими открытиями в значительной степени создали основу современной клеточной биологии. Схема строения клетки, которая встречается в школьных учебниках биологии, – их заслуга. До этого открытия клетку считали ячейкой с некими компонентами. Теперь мы знаем, что клетка – это сложно организованная система со всеми необходимыми для жизни функциями: воспроизводством необходимых частей и энергии, транспортом, деструкцией изношенных или поврежденных частей и защитой от чужеродных организмов и веществ.

Плохой и хороший холестерин

Майкл Браун
Джозеф Голдстайн

Еще недавно многие люди, достигнув возраста, в котором обычно начинают беспокоиться о здоровье, боялись есть яйца, сливочное масло и другие продукты «с высоким содержанием холестерина». Они аргументировали свой отказ тем, что в сосудах могут образоваться холестериновые бляшки, а это чревато атеросклерозом и прочими сердечно-сосудистыми неприятностями. Но все не так однозначно: холестерин холестерину – рознь.

Когда американские ученые – генетик Майкл Браун и биохимик Джозеф Голдстайн – открыли процесс регулирования метаболизма холестерина, стало возможным лечить заболевания, вызванные повышенным уровнем холестерина в крови. Ученые обнаружили, что на поверхности клеток располагаются особые белковые комплексы-рецепторы. Благодаря им циркулирующие в кровотоке молекулы, содержащие холестерин (их называют липопротеинами низкой плотности – ЛПНП), попадают из кровотока внутрь клеток. Браун и Голдстайн установили, что основным механизмом тяжелой генетически обусловленной гиперхолестеринемии, то есть стойкого повышения уровня холестерина, является полное или частичное отсутствие правильно работающих ЛПНП-рецепторов. У здоровых людей употребление продуктов, содержащих холестерин, ингибирует (то есть подавляет) собственный синтез холестерина в клетках. В результате количество ЛПНП-рецепторов на поверхности клетки снижается – так происходит в норме. Дефекты ЛПНП-рецепторов приводят к увеличению уровня холестерина в крови, который впоследствии может накапливаться на стенках артерий, вызывая атеросклероз и в конечном счете сердечный приступ или инсульт. Открытие Брауна и Голдстайна привело к выработке новых подходов к лечению и профилактике атеросклероза, а самих ученых – к Нобелевской премии «за открытие регулирования метаболизма холестерина».

Ведущиеся в последнее десятилетие дискуссии о вреде холестерина могли у многих людей создать впечатление, будто холестерина следует всеми способами избегать, чтобы выжить. Однако это не представляется ни возможным, ни желательным: холестерин содержится во всех наших тканях и жизненно важен для некоторых процессов, происходящих в организме. К тому же

холестерин на 80 % вырабатывается нашим телом, так что «неправильное питание» может увеличить его содержание в крови не более, чем на 20 %.

В печени и кишечнике холестерин преобразуется в молекулярные формы, пригодные для переноса их в кровь и лимфатическую жидкость. Эти формы представляют собой комбинацию липидов и белков, поэтому их назвали липопротеинами. С помощью высокоскоростного центрифугирования различные виды липопротеинов классифицировали по их плотности. Важное клиническое значение имеют два вида: липопротеины низкой плотности (ЛПНП) и липопротеины высокой плотности (ЛПВП). Последний врачи называют «хорошим холестерином».

У здорового человека в одном литре плазмы содержится около 2 г холестерина. Самые высокие аномальные значения, приблизительно 10 г на литр, обнаруживают при тяжелой болезни – семейной гиперхолестеринемии (СГ), вызванной врожденным дефектом метаболизма.

Холестерин выполняет в организме несколько важных функций.

Во-первых, он представляет собой структурный компонент для клеточных мембран: в них содержится более 90 % всего нашего холестерина. Каждая клетка окружена мембраной – клеточной или плазматической. Это не только защитная оболочка. Мембрана играет роль пропускного пункта, где определяется, каким веществам можно проникнуть внутрь клетки, а каким нельзя. Точно так же работает «контроль» на выходе из клетки. Эту функцию иногда выполняют специфические рецепторы, которые захватывают и транспортируют внутрь клетки определенные молекулы. Открытие в 1973 году Брауном и Голдстайном ЛПНП-рецепторов на поверхности мембран стало важной вехой в исследовании холестерина.

Во-вторых, холестерин является сырьем для синтеза важных гормонов: эстрогена, тестостерона, кортизола и альдостерона. Холестерин хранится в клетках надпочечников и гонад и используется, как только возникает потребность в этих гормонах.

В-третьих, холестерин участвует в синтезе витамина D, который предотвращает развитие рахита. Витамин D продуцируется в коже под воздействием ультрафиолетового излучения, это всем известно. Но немногие знают, сколько именно надо находиться на солнце и как долго, чтобы уровень витамина D стал достаточным. Считается, что в средней полосе хватает и получаса, проведенного на улице, чтобы получить достаточную дозу ультрафиолета без риска злокачественного

перерождения клеток кожи.

В-четвертых, жизненно важная функция холестерина связана с питанием. В процессе метаболизма холестерин превращается в печени в желчные кислоты и попадает через общий желчный проток в верхние отделы кишечника – двенадцатиперстную кишку. Затем желчные кислоты возвращаются в кровоток, поглощаются печенью и снова транспортируются в верхние отделы кишечника. Циркуляция желчных кислот регулирует уровень холестерина в крови. Чем больше желчных кислот всасывается в кишечнике обратно, тем меньше образуется новых желчных кислот в печени. Соответственно, меньше потребность в синтезе холестерина.

Прием грубоволокнистой растительной пищи, содержащей клетчатку, приводит к увеличению синтеза желчных кислот печени и снижает уровень холестерина – ведь клетчатка связывает желчные кислоты. Именно поэтому врачи рекомендуют есть пять порций овощей и фруктов в день. В США детей учат этой хорошей привычке в игровой форме: в течение дня они увлеченно собирают «радугу» из съеденных ягод, фруктов и овощей. На русский язык это можно перевести так: каждый – красный – помидор, охотник – оранжевый – морковь, желает – желтый – банан, знать – зеленый – петрушка, где – голубой – голубика, сидит – синий – баклажан, фазан – фиолетовый – слива.

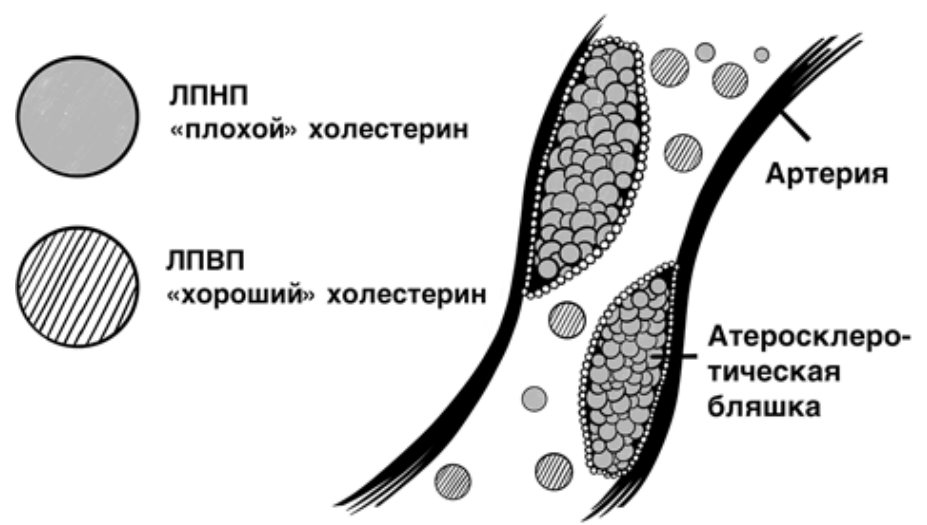


Рис. 7. Молекулы ЛПНП и холестеринового обмена

Большая часть холестерина в крови встречается в виде ЛПНП и представляет собой сферическую частицу. Ее ядро состоит из примерно 1500 молекул сложных эфиров холестерина, каждая из

которых представляет собой холестерин, присоединенный к цепи с длинной жирной кислотой. Ядро окружено поверхностным слоем, состоящим из 800 молекул фосфолипидов, 500 молекул неэстерифицированного холестерина и одной большой белковой молекулы апопротеина В, которая направляет ЛПНП на клеточный рецептор. Поглощение циркулирующих в крови клеточных элементов (1), начинается с их присоединения к ЛПНП-рецепторам во вдавлениях (2) на поверхности клетки. Эти ямки углубляются, втягиваются в цитоплазму и отделяются от клеточной мембраны, чтобы сформировать пузырьки с собственной оболочкой (3). Слияние содержимого пузырька приводит к образованию эндосомы (4). Далее ЛПНП отделяется от рецептора, который возвращается (5) на поверхность мембраны. ЛПНП тем временем доставляется в лизосому, где сложный эфир холестерина расщепляется (и тогда образуется свободный холестерин для синтеза новых мембран) или превращается в стероидные гормоны и желчные кислоты. При этом поглощенный холестерин ингибирует собственный синтез холестерина в клетке.

Что происходит при нарушенном уровне холестерина?

Дефицит холестерина – редкое заболевание, при котором происходят серьезные повреждения организма, особенно нервной системы. Гораздо более распространенная аномалия в метаболизме холестерина связана с его высоким содержанием. Избыточный холестерин накапливается в стенках артерий, образуя бляшки, которые могут закупорить артерии, вызвать сердечный приступ или инсульт. Накопление холестерина в стенках артериальных сосудов – медленный процесс, он может длиться десятилетия. Среди факторов, которые способствуют этому процессу, – высокое кровяное давление, недостаточная физическая активность, курение, длительный стресс и генетические особенности.

Изучая механизм семейной гиперхолестеринемии (СГ), Браун и Голдстайн обнаружили новый и неожиданный способ регуляции метаболизма холестерина. Они рассуждали следующим образом. Обычно клетки обладают высокой способностью синтезировать свой собственный холестерин. При низкой концентрации в крови холестерина низкой плотности («плохого» ЛПНП) клетки увеличивают количество ЛПНП-рецепторов на своей поверхности. Таким образом, концентрация ЛПНП в крови уменьшается. Чем больше ЛПНП циркулирует в кровообращении, тем он доступнее для клеток. Нобелевские лауреаты внедрили совершенно новые

принципы лечения СГ, основанные на обнаружении ЛПНП-рецепторов. У лиц с мягкой гетерозиготной формой СГ они с помощью препаратов увеличивали количество ЛПНП-рецепторов. Это снижало уровень холестерина в крови. Однако при более тяжелой гомозиготной форме СГ, когда функциональные ЛПНП-рецепторы полностью отсутствуют, лекарство не помогало. Был проанализирован случай с трансплантацией печени у тяжелобольной шестилетней девочки с СГ. Поскольку она перенесла несколько сердечных приступов, ей были пересажены одновременно донорские печень и сердце. Через полгода после операции уровень холестерина в ее крови составил 3 г на литр – вместо 12 г на литр перед трансплантацией печени.

Открытия, сделанные Брауном и Голдстайном, резко расширили не только понимание метаболизма холестерина, но и медицинские возможности для профилактики и лечения атеросклероза и сердечных приступов. А людям, собирающимся сесть на строгую диету, они дали надежду на то, что сохранить сосуды можно и без мучительного самоограничения в еде.

Сердечно-сосудистые катастрофы – основная причина смерти в большинстве развитых стран, по этой причине люди умирают даже чаще, чем от онкологических заболеваний. Болезнь вызвана наследственными, экологическими и некоторыми другими факторами, которые вызывают снижение количества ЛПНП-рецепторов клеток. Это увеличивает уровень ЛПНП в крови и, следовательно, риск развития атеросклероза. Революционные результаты исследований Брауна и Голдстайна дали нам препараты, которые увеличивают количество ЛПНП-рецепторов, при этом к питанию больного предъявляется гораздо меньше ограничений. Так что скоро из-за плохого анализа на холестерин не придется отказываться от бутерброда с маслом и хорошего шашлыка.

Аутофагия внутри нас, или как наконец похудеть и защититься от рака

Ёсинори Осуми

В последние десятилетия Нобелевскую премию по физиологии и медицине редко присуждают одному исследователю, обычно ее получают коллективы увлеченных ученых. Однако фундаментальные открытия-озарения (а они обычно строятся на основе предыдущих исследований, а также опыта и прозорливости) по-прежнему совершают одиночки.

Более 130 лет назад из уст российского ученого впервые прозвучал выведенный им термин «фагоцитоз». За исследование связи фагоцитоза с иммунитетом Илья Ильич Мечников получил Нобелевскую премию. В середине 1950-х годов другой нобелевский лауреат, бельгийский биохимик Кристиан де Дюв, ввел термин «аутофагия» (от греческих слов αὐτός «сам» и φαγεῖν «есть» – самопоедание). Термин потребовался де Дюву для описания процесса, который он с коллегами обнаружил с помощью электронного микроскопа, а именно – доставку в определенные клеточные отделы различных фрагментов, находящихся как внутри клетки, так и вне ее. Концепция «самопоедания» появилась, когда исследователи впервые заметили, что клетка может уничтожить собственное содержимое, заключив его во фрагмент мембраны и образовав мешковидные пузырьки, которые далее транспортируются для утилизации в клеточную органеллу, – ее ученые назвали лизосомой.

Трудности в изучении аутофагоцитоза заключались в отсутствии экспериментальной модели, на которой можно было бы с помощью увеличительных приборов наблюдать это явление, а также в идентификации генов, отвечавших за этот процесс. В начале 1990-х годов Ёсинори Осуми из Японии провел серию блестящих экспериментов на дрожжевых культурах и показал, что в наших клетках осуществляются аналогичные механизмы. Также он идентифицировал гены, ответственные за этот процесс, и таким образом нашел решение сразу обеих задач. В 2016 году Осуми получил Нобелевскую премию «за открытие механизмов аутофагии».

Одна из важных функций любой живой системы – переваривание и утилизация собственных отходов. В первой половине XX века было известно, что в живой клетке пищеварительную функцию выполняют лизосомы, содержащие ферменты, которые переваривают белки, углеводы и липиды.

Новые наблюдения в 1960-х годах показали, что в лизосомах иногда можно найти большое количество внутриклеточного содержимого и даже целые клеточные органеллы. Дальнейший биохимический и микроскопический анализ выявили новый тип органелл, доставляющих клеточные грузы в лизосому для утилизации. Кристиан де Дюв назвал их аутофагосомами. Как же клетка избавляется от крупных белковых комплексов и изношенных органелл?

Ёсинори Осуми проводил исследования в самых разных областях, но, когда создал в 1988 году собственную лабораторию, сосредоточился на деградации (процесс, обратный синтезу) белка в вакуоле дрожжей – органелле, которая соответствует лизосоме в клетках человека. Осуми столкнулся с серьезной проблемой: дрожжевые клетки малы, а их внутренние структуры трудно различить под микроскопом. Ученый даже не был уверен, происходит ли в них аутофагия. Осуми предположил, что если нарушить процесс деградации в вакуоли, пока там идет активный процесс переваривания, то аутофагосомы должны накопиться в ней и стать видимыми под микроскопом. Поэтому он культивировал мутировавшие дрожжи, не имевшие ферментов для деградации. Культивируя их на бедных питательных средах, Осуми одновременно стимулировал аутофагию. Результаты были поразительными! В течение нескольких часов вакуоли наполнились небольшими пузырьками, которые еще не деградировали. Эти пузырьки были аутофагосомами, а эксперимент Осуми доказал, что аутофагия происходит в клетках дрожжей. В процессе своего формирования аутофагосома поглощает клеточные отходы – поврежденные протеины и остатки органелл. В итоге она сливается с лизосомой, и ее содержимое, благодаря лизирующим ферментам, распадается до аминокислот. Этот процесс обеспечивает клетки питательными веществами и строительным материалом для обновления.

Но гораздо важнее то, что у ученого теперь был метод выявления и характеристики ключевых генов, участвующих в этом процессе. Во время своей нобелевской лекции Осуми признался: «Я смотрел в микроскоп на вакуоли каждый день по многу часов. Думаю, что в эти годы в наблюдении за клетками дрожжей я провел больше времени, чем кто-либо еще!»

Настойчивые наблюдения привели Осуми к обнаружению генов, ответственных за аутофагию. Вот как это произошло. Осуми искусственно создал штамм дрожжей, в котором аутофагосомы были накоплены в результате недостаточного питания. Осуми обработал дрожжевые клетки препаратом, вызывавшим произвольные мутации во многих генах, а затем

инициировал аутофагию. Его стратегия сработала! Уже в год своего открытия он сумел определить первые гены, необходимые для аутофагии. В последующих сериях исследований были определены функциональные характеристики белков, закодированных этими генами. Результаты показали, что аутофагия регулируется каскадом белков и белковых комплексов, каждый из которых управляет отдельными стадиями инициации и развития аутофагосомы.

Благодаря Осуми количество исследований, посвященных аутофагосомам, стало нарастать лавинообразно. Если в 1992 году, когда он сделал открытие, в научных журналах выходило примерно 20 статей на эту тему, то в последующие годы – примерно 5000.

Теперь известно, что аутофагия – это механизм, необходимый нашим клеткам. Он контролирует те важные физиологические функции, при которых клеточные компоненты должны быть разрушены и переработаны. Аутофагия может быстро обеспечить клетку топливом и предоставить строительные блоки для восстановления клеточных компонентов – вот почему она необходима для клетки во время голодания или в других стрессовых ситуациях. В случае заражения аутофагия может устранить вторжение внутриклеточных бактерий и вирусов. Аутофагия способствует развитию эмбрионов и дифференциации клеток. Также клетки используют механизм аутофагии, чтобы освободиться от дефектных белков и органелл.

Было открыто, что нарушение процесса аутофагии связано с болезнью Паркинсона, диабетом второго типа и другими расстройствами, которые обусловлены накоплением неутилизированных веществ. Чаще всего эта проблема встречается у пожилых людей. Мутации в генах, регулирующих аутофагию, могут вызвать генетическое заболевание. Нарушения в механизме аутофагии также ассоциированы с возникновением рака. Все это побудило научно-исследовательские группы к интенсивным разработкам препаратов для лечения различных тяжелых заболеваний. А ключ к этим разработкам дало открытие Ёсинори Осуми.

Когда один из авторов этой книги рассказала о нем на своей страничке в фейсбуке, посыпались вопросы на тему: правда ли, что голодание в течение 16 часов и более способствует не только похудению, но и защите от опухолей и возрастных изменений. Пока можно сказать определенно, что при культивировании клеток на низкопитательных средах значимо увеличивается число аутофагосом – следовательно, усиливается процесс утилизации белковых фрагментов и других «мусорных» частиц в клетках.

Предположительно, это действительно может дать положительный эффект.

ГЛАВА 2. Гены в XX веке: от открытия до редактирования

Создание хромосомной теории наследственности

Томас Морган

С древних времен человек замечал, что обычно дети внешне и по характеру напоминают своих родителей, а братья и сестры могут быть очень похожи. Люди пытались найти этому объяснение, разгадать механизм передачи признаков из поколения в поколение и выяснить, откуда у человека могут появиться черты, не свойственные его предкам. Многие сотни лет представления о наследственности носили сугубо мистический характер и не приближали человечество к правильной разгадке.

Древнегреческий ученый Гиппократ писал, что ребенок наследует качества из разных частей организма отца и матери. Это мнение разделял и Аристотель. С незначительными изменениями такое предположение было общепринятым вплоть до конца XIX века, а единственной теорией, которая соперничала с ним, был так называемый преформизм, берущий свое начало в религиозных учениях. Согласно этой теории, в момент создания первой женщины все последующие поколения уже были сформированы в ее чреве, а мужское семя представляет собой очень маленьких людей, впоследствии сильно вырастающих. В модифицированном виде преформизм был популярен в биологии XVII–XVIII веков. Именно в то время появлялись идеи о возможности создать в лаборатории гомункулуса, так забавлявшие интернет-сообщество в середине 2010-х годов.

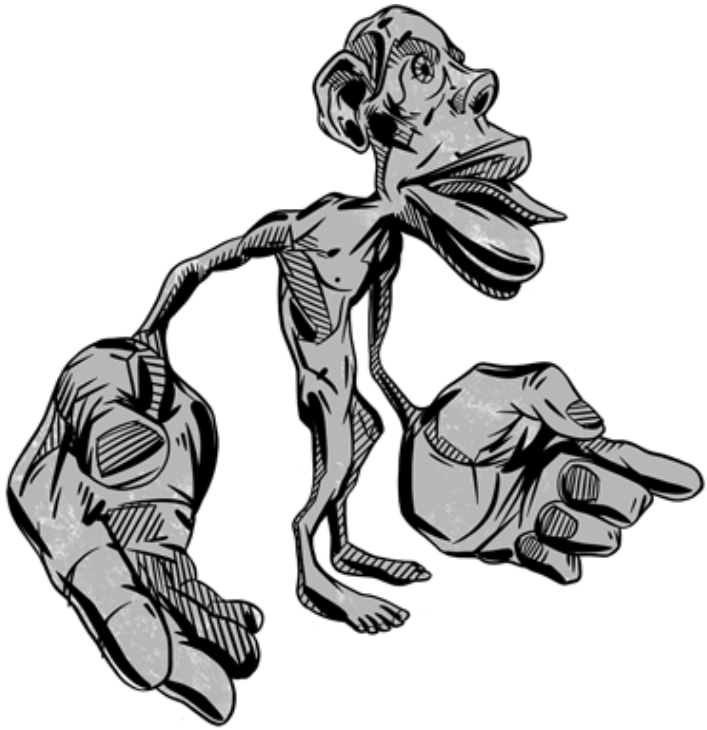


Рис. 8. Гомункулус

Исследования вопросов наследственности начались в середине XIX века. Основу исследований заложил монах ордена Святого Августина Грегор Мендель, опубликовавший в 1866 году результаты своих экспериментов по гибридизации растений. В том же году в США родился Томас Морган, ставший впоследствии последователем Менделя и основоположником целой плеяды генетиков.

Открытия Менделя имели революционное значение. Они показали полную несостоятельность старых теорий, однако остались совершенно неоцененными современниками. Выводы, которые делал Мендель, скрещивая несколько сортов садового гороха, формулируются в двух его законах о наследственности. Первый – правило расщепления. Его суть такова: если два разных наследственных фактора объединить в одном поколении для получения определенного качества (например, размера растения), то в следующем поколении они разделятся. Второй закон Менделя – правило свободных комбинаций: в каждом следующем поколении различные наследственные факторы могут создавать независимые друг от друга новые комбинации. Если, например, высокое растение с красным цветком скрестить с маленьким и белоцветным, то факторы «красные» и «белые» могут быть

унаследованы независимо от факторов «большие» и «малые». Во втором поколении, кроме высоких красноцветных и коротких растений с белыми цветками, получатся короткие красноцветные и высокие белоцветные.

Мендель заслужил благодарность пришедших ему на смену генетиков за точную регистрацию характерных признаков и последующее их проявление из поколения в поколение. Исследователь обнаружил относительно простые, повторяющиеся численные пропорции, которые дали ученым ключ к истинному пониманию механизма наследования. Экспериментальная генетика XX века доказала, что правила Менделя применимы ко всем многоклеточным организмам: ко мхам и цветущим растениям, к насекомым, моллюскам, крабам, амфибиям, птицам и млекопитающим, включая человека.

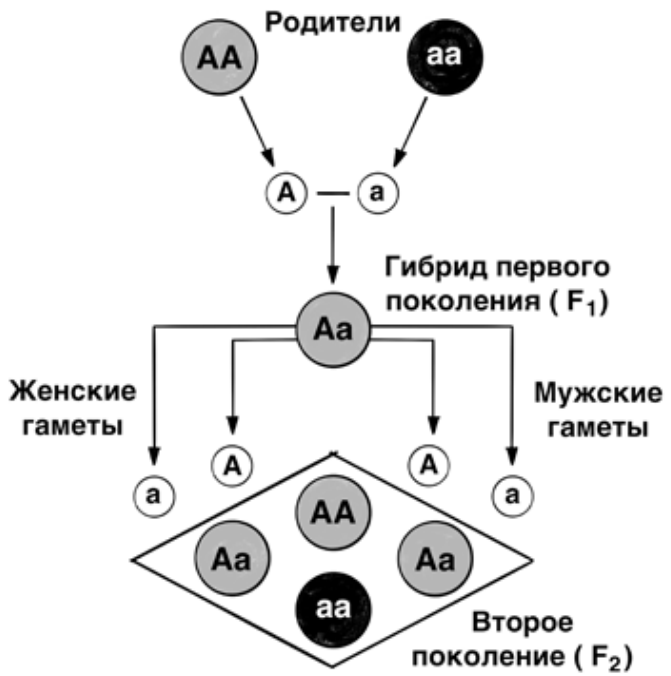


Рис. 9. Схема по Менделю для трех поколений

Однако законы Менделя ждала судьба многих других великих открытий, опередивших свое время. Их значение не было оценено по заслугам, и они ушли в небытие. А после того, как в 1884 году Мендель умер, никто их не вспоминал вплоть до начала следующего века.

Повторное открытие законов Менделя было сделано около 1900 года. Тогда научный мир уже был готов принять новую

теорию и оценить ее значимость, ведь к тому времени были получены корректные сведения о строении клетки и ее ядра. О митотическом делении клеток и хромосомах – странных нитевидных структурах, появляющихся при митозе, – было известно уже в начале 1870-х годов. Наблюдая расхождение, блуждание и слияние хромосом на разных фазах клеточного деления, исследователи поняли, что хромосомы при митозе не появляются, а утолщаются и поэтому становятся хорошо видны. Мнение о том, что хромосомы – носители наследственной информации, впервые было четко и обоснованно высказано в 1903–1904 годах.

Словом, научная почва была хорошо подготовлена, и когда в 1910 году американский зоолог Томас Морган начал свои исследования, они в конечном счете привели его в 1933 году к Нобелевской премии «за открытие роли хромосомы в наследственности».

Успех Моргана объясняется несколькими причинами. Во-первых, он использовал сразу два, казалось бы, непересекающихся метода: статистически-генетический, принятый Менделем, и микроскопический. Морган со своей командой не только наблюдал за тем, как и какие признаки передаются из поколения в поколение, но параллельно старался фиксировать, какие микроскопические процессы в клетках и хромосомах приводят к тем или иным результатам скрещивания.

Другая причина успеха Моргана связана с удачным, прямо-таки гениальным выбором объекта для экспериментов. С самого начала Морган работал с мухой дрозофилой обыкновенной (*Drosophila melanogaster*). Эти мушки, ставшие теперь классическим модельным организмом, легко содержатся в лабораторных условиях и хорошо переносят большинство необходимых экспериментов. Дрозофилы непрерывно размножаются, новое поколение появляется примерно через каждые 12 дней, то есть не менее 30 раз в год. Самки откладывают за жизнь до 1000 яиц, а мужские и женские особи легко отличить друг от друга. Именно такой удачный выбор позволил Моргану обогнать других видных ученых-генетиков, которые начали аналогичные исследования раньше, но использовали в качестве экспериментальных объектов менее подходящих животных или растения.

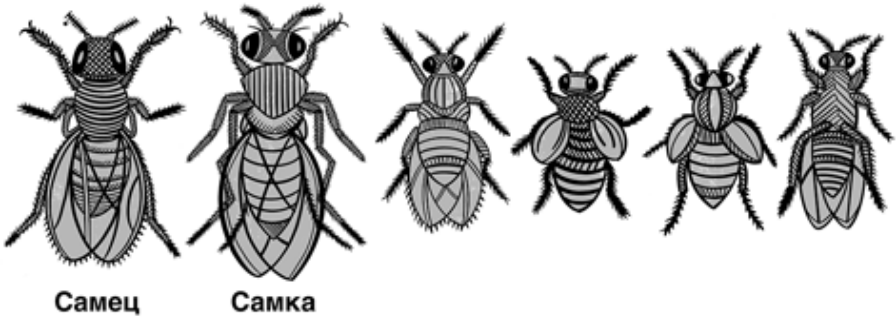


Рис. 10. Различные наследственные формы мухи дрозофилы

Так же как и учение Менделя, открытие Моргана можно тезисно представить в виде правил или законов. Их четыре: правило комбинации, правило ограниченного числа комбинационных групп, правило пересечения, а также правило линейного расположения генов в хромосомах. Они принципиальным образом дополняют правила Менделя. Все они неразрывно связаны и образуют вместе тесное биологическое единство.

Правило сочетания Моргана, согласно которому некоторые наследственные признаки связаны друг с другом, в значительной степени ограничивает второе правило Менделя, по которому в новом поколении гены могут сочетаться независимо. Правило сочетания дополняется правилом ограниченного числа комбинационных групп, соответствующих количеству хромосом. С другой стороны, правило сочетания ограничено странным явлением, которое Морган назвал «кроссинговером», или обменом генов: Морган представлял его как реальный обмен частями между хромосомами. Эта теория встретила много возражений, однако была доказана посредством прямых микроскопических наблюдений.

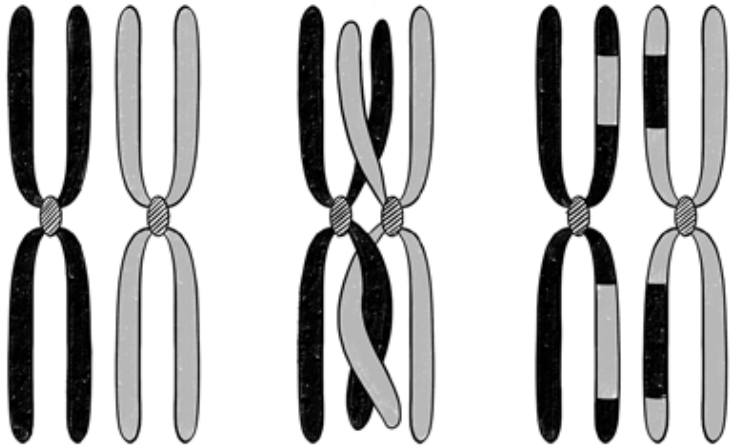


Рис. 11. Кроссинговер

Правило линейного расположения генов также казалось вначале фантастикой. Утверждение Моргана о том, что участки, отвечающие за различные наследственные признаки, расположены на хромосоме словно бусины, вызвала волну скепсиса. Дело в том, что Морган пришел к таким сенсационным выводам путем статистического анализа результатов скрещивания дрозофил, а не с помощью прямого исследования хромосом. Но более поздние работы полностью подтвердили правоту ученого.

Исследования Моргана не только заложили надежный фундамент для развития генетики, но и практически сразу приобрели прикладное значение. Сформулированные им правила позволили по-новому взглянуть на наследственные заболевания человека, значительно расширив возможности их лечения и профилактики. Так, например, стал понятен механизм передачи по наследству «царской» болезни гемофилии, которой страдали многие европейские принцы. Но не принцессы! Дело в том, что, в соответствии с правилом сочетания Моргана, ген, отвечающий за низкую свертываемость крови (причина гемофилии) находится на Х-хромосоме, которых у женщин две, а у мужчин всего одна. Болезнь проявляется (но не распространяется) по мужской линии. Обладая этими знаниями, люди могут заниматься планированием семьи или по крайней мере заранее подготовиться к рождению особенного ребенка.

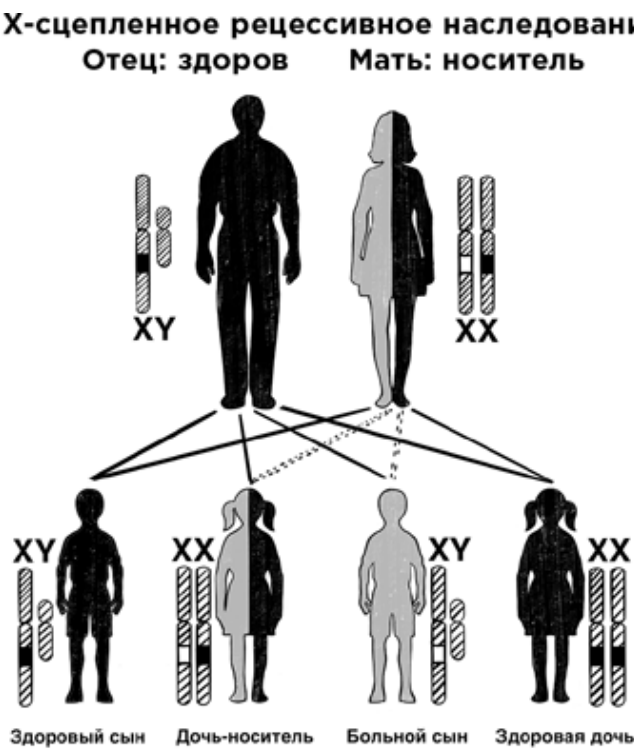


Рис. 12. Схема передачи гемофилии

Кстати

В английском языке термин «mendelism» означает всего лишь «учение Менделя». Но в СССР слово «менделизм» имело негативную коннотацию. До 1960-х годов «менделизмом-морганизмом» называли совокупность теорий Грегора Менделя и Томаса Моргана (как и в английском языке), вот только генетика считалась тогда в СССР «продажной девкой империализма» и ее основоположников принято было ругать.

Слово из трех букв: ДНК – ключевое открытие XX века

Фрэнсис Крик
Джеймс Уотсон
Морис Уилкинс

Сразу после того, как была расшифрована структура дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), один из авторов исследования, британец Фрэнсис Крик, написал сыну: «…Джим Уотсон и я, вероятно, сделали самое важное открытие…» – и был совершенно прав. Установление структуры и функций ДНК считается одним из ключевых достижений не только молекулярной биологии, но и всей мировой науки. Хотя в своем письме сыну Крик упомянул только американца Джеймса Уотсона, важную роль в разгадке структуры ДНК играли еще двое ученых: подданные Британской короны Морис Уилкинс и Розалинд Франклин.

К моменту великого открытия было известно, что ДНК состоит из фосфатной группы, сахара (дезоксирибозы) и четырех азотистых оснований: аденина, гуанина, тимина и цитозина. По сформулированным в 1951 году правилам Чаргаффа аденин с тимином и гуанин с цитозином содержались в ДНК попарно в равном количестве. В начале 1950-х годов сотрудники Королевского колледжа Лондона Морис Уилкинс и Розалинд Франклин получили рентгеноструктурные фотографии, указывавшие на то, что ДНК имеет форму, похожую на спираль. В ученой среде шло настоящее соревнование: кто на основе имеющихся данных построит верную модель ДНК.

Крик и Уотсон выдвинули свою первую гипотезу о структуре ДНК в 1951 году, но ошиблись. Их модель, предполагавшая, что центральный остов молекулы состоит из фосфатов, оказалась нежизнеспособной. В следующем году будущий лауреат двух Нобелевских премий (по химии и премии мира) Лайнус Полинг выдвинул собственную гипотезу, но тоже построил теорию на ошибочном предположении о фосфатном остове, располагающемся в центре молекулы. Удачной оказалась лишь очередная попытка Фрэнсиса Крика и Джеймса Уотсона, сделанная в 1953 году. Эти ученые учли предыдущие ошибки и предложили структуру ДНК, схему которой до сих пор размещают во всех учебниках биологии. Огромное влияние на формирование революционной теории оказала прекрасного качества

фотография, сделанная Розалинд Франклин в конце 1952 года.

Сейчас это знает любой старшеклассник, заглянувший в учебник биологии. Молекула ДНК состоит из двух цепочек нуклеотидов (азотистое основание + сахар + фосфат), соединенных «мостиками» между фосфатом предыдущего нуклеотида и сахаром следующего. При этом цепочки комплементарно (то есть взаимно дополняя друг друга) соединены между собой водородными связями – аденин связывается с тимином, а гуанин с цитозином. Таким образом, цепочки как бы зеркально отражают друг друга. Именно благодаря открытию принципа комплементарности ученым в дальнейшем удалось построить теорию о том, каким образом при делении клетки удваивается количество генетического материала. Действительно каждую из цепей ДНК можно «достроить» до полноценной молекулы единственным способом.

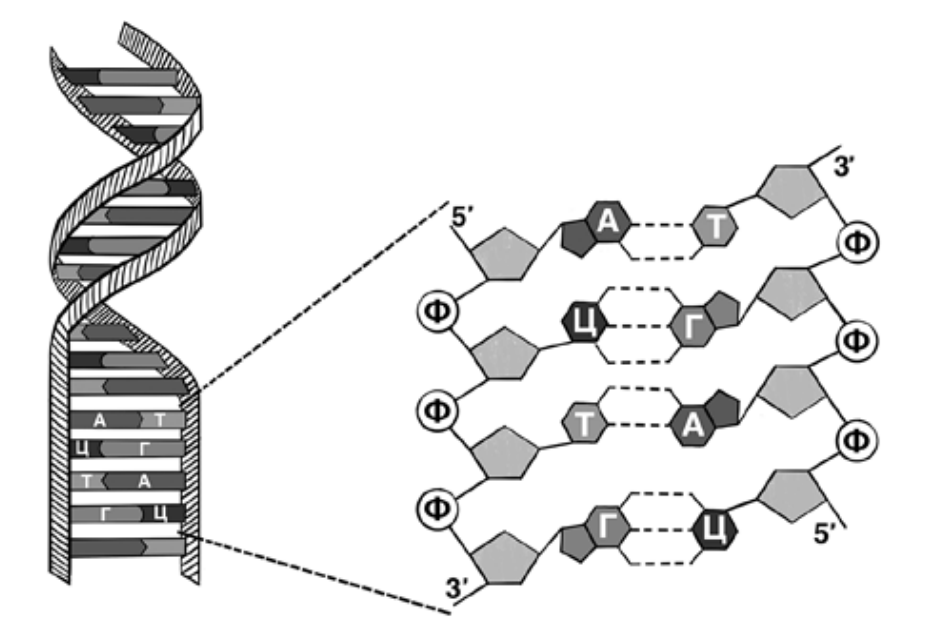


Рис. 13. Структура ДНК

Ученые, открывшие структуру ДНК, продолжили изучать передачу генетической информации – как при появлении новой клетки, так и в процессе жизнедеятельности старой. В 1958 году Фрэнсису Крику удалось сформулировать основную догму молекулярной биологии. Ученый установил, что генетическая информация в клетке удваивается в процессе репликации ДНК: молекула «расплетается», и каждая цепочка комплементарно достраивается вновь. Затем с ДНК снимается «копия» в виде

одноцепочечной рибонуклеиновой кислоты (РНК) – этот процесс называется транскрипцией. Наконец, в ходе трансляции в рибосомах (специальные органеллы в клетке) по «инструкции», содержащейся в РНК, из аминокислот собираются белки.

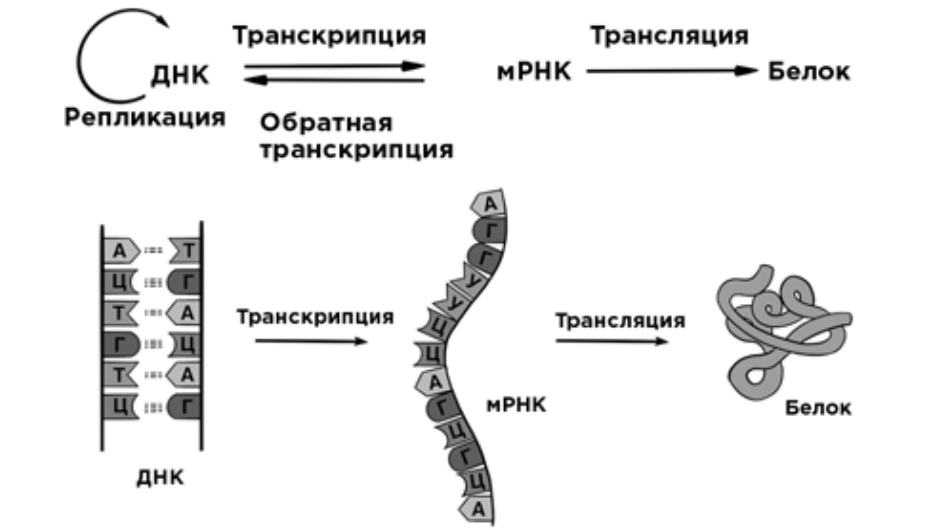


Рис. 14. Схема переходов ДНК-ДНК, ДНК-РНК, РНК-белок

Работы Фрэнсиса Крика, Джеймса Уотсона и Мориса Уилкинса «за открытие молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значимости для передачи информации в живом материале» были отмечены Нобелевской премией в 1962 году. К сожалению, Розалинд Франклин, чей вклад в исследования на их начальном этапе был огромным, скончалась в 1958 году, поэтому не была удостоена премии. Как мы уже писали, по правилам Нобелевская премия не присваивается посмертно.

Установление истинной структуры ДНК и роли этой молекулы в жизни клетки определило ход научной мысли на многие годы вперед. Именно благодаря этому открытию стали возможны клонирование, получение генно-модифицированных организмов, установление родственных связей при помощи анализа ДНК и многие другие практически значимые технологии. Пожалуй, самым интересным научный путь получился у Джеймса Уотсона, самого молодого из ученых, определивших структуру ДНК. В 1990 году, через несколько десятилетий после своего нобелевского открытия, Уотсон возглавил всемирный проект «Геном человека», призванный расшифровать последовательность человеческой ДНК. Более того, ученый стал первым *Homo sapiens*, чей генетический код был полностью расшифрован. Это

произошло в 2007 году.

Однако и здесь все непросто. Доктор Уотсон не захотел узнавать в подробностях информацию о своем геноме. Ученый просил не сообщать ему, если при секвенировании выяснится, что он носитель гена под названием ApoE4 (иными словами, аполипопротеин Е; аполипопротеин – это белок, переносящий липиды, то есть жиры). Наличие ApoE4 повышает шансы развития болезни Альцгеймера на 30–50 %. Большинство носителей гена узнают об этом обстоятельстве уже после появления первых симптомов, которые вынуждают их пройти генетический тест. Поскольку на современном этапе развития медицины болезнь Альцгеймера нельзя предупредить и вылечить, Джеймса Уотсона можно понять: зачем лишний раз расстраиваться, если ничего нельзя изменить? Лучше уж просто ничего не знать о своей проблеме!

В 2015 году Джеймс Уотсон приехал в Россию, и этот визит стал значимым событием не только для отечественной научной общественности, но и для самого ученого. Дело в том, что в 2014 году Джеймс Уотсон продал нобелевскую медаль, а деньги пожертвовал на нужды своего университета. На аукционе награду выкупил российский бизнесмен Алишер Усманов, а во время посещения Уотсоном Российской академии наук вернул ее ученому. Уотсон был очень тронут этим щедрым жестом.

Развитие молекулярной биологии, вирусологии, генетики, биоинформатики и еще нескольких десятков дисциплин стало возможным и получило бурное развитие благодаря открытию, сделанному Франклин, Уилкинсом, Уотсоном и Криком в далеком 1953 году. На принципах, заложенных этими учеными, базируются около половины научных достижений, описанных в этой книге. Вероятно, принципы эти послужат основой еще для многих нобелевских открытий в будущем.

Расшифровка генетического кода

Роберт Холли
Хар Корана
Маршалл Ниренберг

В истории Нобелевской премии по физиологии или медицине почти нет примеров, когда за короткий промежуток времени премия присуждалась бы за одно и то же направление медицины несколько раз. Отбирая номинантов, Нобелевский комитет рассматривает множество открытий и исследований. Он старается уделить внимание всем медицинским специальностям и не забывает при этом о физиологии. Исключением стала молекулярная биология. За десятилетие, начавшееся в 1958 году, в этой области было получено целых пять премий. Самой важной из них стала, пожалуй, премия, врученная в 1968 году Роберту Холли, Хару Корану и Маршаллу Ниренбергу за «расшифровку генетического кода и его функции в синтезе белков».

Но история расшифровки кода началась за 100 лет до этого, когда молодой врач из Швейцарии Фридрих Мишер выделил из ядра клетки новый тип соединения, которое он назвал нуклеином. Сегодня этот тип соединения известен под названием «нуклеиновая кислота». А еще двумя годами ранее австрийский биолог Грегор Мендель закончил серию простых экспериментов с садовым горохом. Эти эксперименты показали, что «элементы», в настоящее время называемые генами, отвечают за наследование организмом физических признаков, например, таких как окраска цветков у растений. Фридрих Мишер и Грегор Мендель положили начало генетике как науке. Их открытия первоначально, казалось бы, имевшие мало общего, стали первыми кусочками пазла, который через столетие сложился в полную картину генетического кода, названного в нобелевской лекции Роберта Холли «кодом жизни».

Что же такое генетический код и почему он называется кодом жизни?

Белки́ – это очень сложные молекулы, но их структура имеет определенные закономерности. Белки построены из ограниченного количества небольших строительных блоков – аминокислот. Сначала их разнообразие оценивали от 21 до 23. Если сравнить многообразие белков с языком, то можно представить аминокислоты в виде букв алфавита. Так язык аминокислот в клетке описывает наши наследуемые качества.

Существует два вида нуклеиновых кислот: рибонуклеиновая кислота (РНК) и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). В 1950-х годах было установлено, что генетическая информация передается от ДНК к РНК, а далее специальные молекулярные комплексы считывают с РНК информацию и синтезируют белок. В 1953 году Фрэнсис Крик и Джеймс Уотсон определили химическую структуру молекулы ДНК, показав, что она имеет форму двойной спирали и очень похожа на винтовую лестницу. Одна последовательность из трех нуклеотидов в ДНК соответствует определенной аминокислоте в белке.

Продолжая нашу аналогию, можно сказать, что в клетках помимо языка аминокислот существует и язык нуклеиновых кислот. Одна клетка содержит много тысяч белков, которые осуществляют все химические реакции, необходимые для нормального функционирования живого организма. Синтез каждого белка задан нуклеиновой кислотой. Кареглазый ребенок получил от своих родителей нуклеиновые кислоты, которые «отрегулировали» образование белков, необходимых для синтеза темного пигмента радужной оболочки глаза. Генетический код – это нуклеиново-белковый разговорник, позволяющий осуществлять перевод с одного языка на другой. Но как его составить?

Для решения этой задачи Маршалл Ниренберг воспроизвел в пробирке экспериментальную систему, которая использовала нуклеиновую кислоту в качестве шаблона для сборки белка. Но сначала он синтезировал полиурацил – молекулу РНК, которая содержит только одно основание, а именно – урацил. Затем ученый поместил эту молекулу в свою бесклеточную экспериментальную систему, состоящую из смеси аминокислот, РНК, рибосом (комплексов, производящих белок), необходимых ферментов и других веществ, полученных в результате деликатного размельчения бактерий. В результате полиурациловая РНК направила синтез молекулы белка, состоявшего из цепочки молекул аминокислоты фенилаланина. Следовательно, код для фенилаланина представлял собой триплет урацил-урацил-урацил, или УУУ. Поскольку ДНК содержит четыре азотистых основания, а генетический код образуется из триплетов азотистых оснований, то существует 64 возможные триплетные комбинации для ДНК. Далее Маршалл Ниренберг, Роберт Холли и Хар Коран (ему принадлежит главная заслуга в этом деле) повторили эксперименты в той же системе с каждой из триплетных комбинаций – и синтезировали все возможные триплетные последовательности. Таким образом были открыты коды триплетов азотистых оснований для всех 20

аминокислот. Правда, оказалось, что аминокислоты кодируются более, чем одним триплетом, а некоторые триплеты известны как «бессмысленные», потому что не кодируют ни одну аминокислоту, но их значение было определено позднее.

Таким образом было установлено, как устроен механизм клетки, осуществляющий нуклеиново-белковый перевод. Теперь оставалось решить, какую роль в процессе играют РНК и как весь этот механизм взаимодействует в пространстве клетки с ее ядром, в котором находится ДНК, и рибосомами, где фактически происходит сборка белков. Этим занялся Роберт Холли. Основываясь на расшифрованном Ниренбергом триплетном коде для аминокислоты фенилаланина, он синтезировал молекулу транспортной РНК с соответствующим нуклеотидным составом.

Теперь стало понятно, что существует как минимум три типа РНК, взаимодействующих друг с другом в процессе синтеза молекул белка: информационная (или матричная), рибосомная и транспортная (о еще одном типе РНК – интерферирующей – см. в главе «РНК-интерференция – «контролер» генетической информации»). Информационная РНК копирует генетический код с ДНК в клеточном ядре и переносит генетическую реплику к рибосомам в цитоплазму клетки. Транспортная РНК, которая содержит специфическую нуклеотидную последовательность для каждой аминокислоты, захватывает предназначенную ей нуклеотидным кодом аминокислоту и транспортирует ее в цитоплазме к рибосомам, где белки и синтезируются при участии рибосомной РНК.

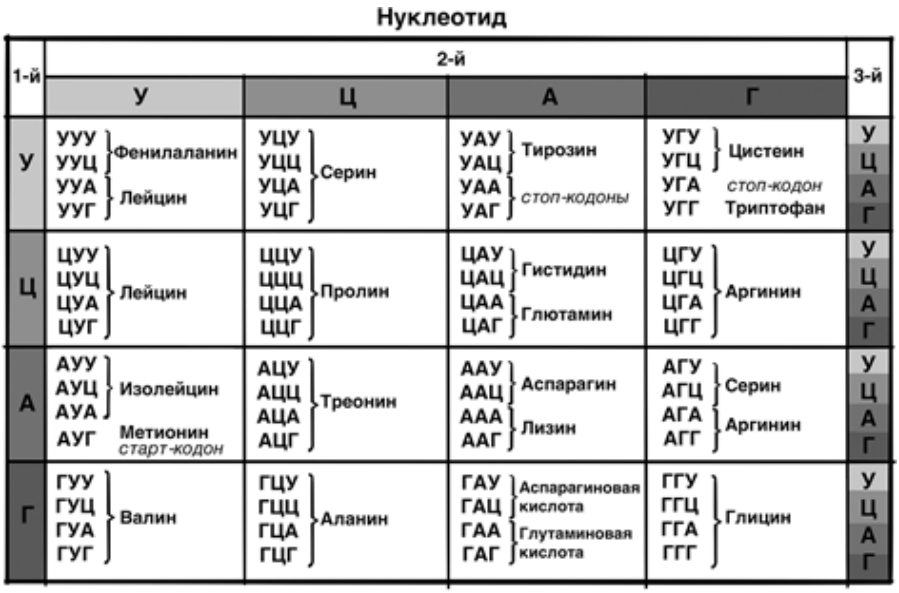


Рис. 15. Схема кодирования аминокислот кодонами и стоп-кодоны

Холли и его коллеги обнаружили также, что транспортная РНК имеет биологически активную вторичную структуру в дополнение к первичной. Первичная структура представляет собой последовательность основания в нуклеотидной цепи. Вторичная структура транспортной РНК показывает, в каких местах витки спирали контактируют друг с другом. Эта структура напоминает трехлистный клевер. Последовательность нуклеотидов в «среднем листке» комплементарна соответствующему участку информационной РНК, то есть может с ней связываться. Эта комплементарность между транспортной и информационной РНК обеспечивает правильное расположение аминокислот в составе белка.

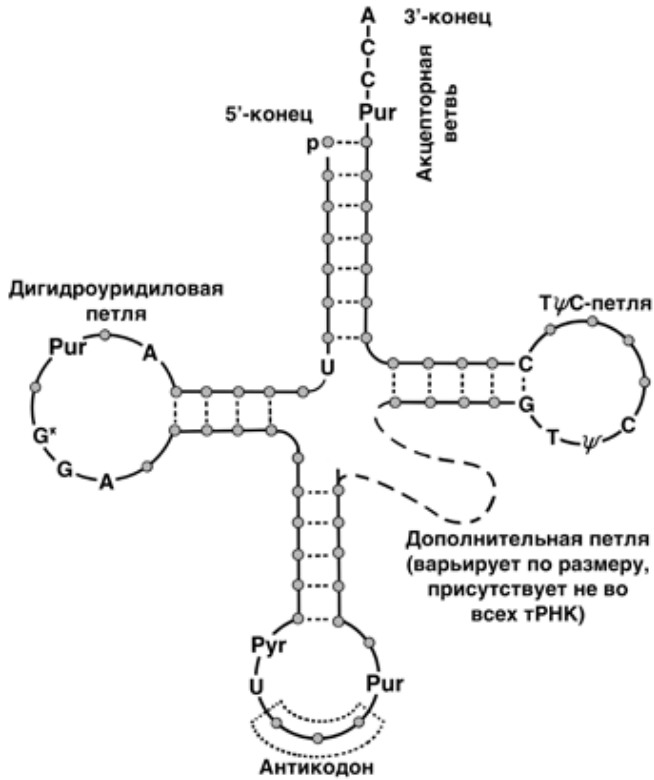


Рис. 16. Вторичная структура тРНК

Награждая троих лауреатов, представитель Нобелевского комитета сказал: «В 1958 году в своей нобелевской лекции Эдуард Тейтем заглянул в хрустальный шар, чтобы предсказать грядущие события в молекулярной биологии. В нем он увидел, что до разгадки генетического кода доживут по крайней мере некоторые из присутствовавших в зале. В то время это было смелым пророчеством, больше похожим на фантазию. Однако не прошло и трех лет, как были расшифрованы первые буквы кода, а благодаря вашей смекалке природа кода и бóльшая часть его функций в синтезе белка стали известны менее чем за восемь лет. Вместе вы написали самую захватывающую главу в современной биологии».

Кстати

Во время Второй мировой войны Роберт Холли прервал исследования по органической химии в Корнеллском университете, а также прекратил работу в медицинском колледже

и присоединился к группе американских ученых, которая впервые синтезировала пенициллин – антибиотик, открытый Флемингом в 1928 году.

С чего началось редактирование генома человека

Вернер Арбер
Даниел Натанс
Хамилтон Смит

«Их исследование открывает фантастические возможности: копировать людей в лабораториях, массово создавать гениев, рабочих, преступников», – так говорили на шведском телевидении о лауреатах Нобелевской премии по физиологии и медицине 1978 года. Телевизионщики нисколько не шутили, хотя несколько приукрасили реальность, которая, впрочем, была (и остается!) чрезвычайно захватывающей без всяких преувеличений.

Открытия Вернера Арбера, Даниела Натанса и Хамилтона Смита ознаменовали начало новой эры в развитии генетики. Как наука она сформировалась более 150 лет назад, начавшись с экспериментов Грегора Менделя (он доказал, что у нас есть гены, каждый из которых выполняет конкретную функцию и передается из поколения в поколение). Вторая эра генетики началась в 1940–50-х годах, когда была установлена ключевая роль ДНК в хранении и передаче наследственной информации. Генетика стала молекулярной, приобрела химическую основу. Ученые узнали, что ген представляет собой фрагмент ДНК, которая содержит код для синтеза белков. Были сделаны фундаментальные открытия в области молекулярной генетики, в 1960–70-х годах более четверти Нобелевских премий по физиологии или медицине вручались за исследования именно в этой области.

Большинство опытов проводилось на бактериях и вирусах, но результаты их применимы к людям. Однако жизнедеятельность человеческого организма зависит от множества управляемых генами биологических процессов, которых нет у микроорганизмов. Перед учеными стояло много вопросов. Например, было непонятно, как генетически регулируется развитие одной оплодотворенной яйцеклетки в полноценный уникальный организм? Какой механизм заставляет клетки различных органов сохранять свои специализированные функции? В течение 1950–60-х годов ученые интенсивно работали, чтобы ответить на эти вопросы, но им казалось, что они стучатся в закрытую дверь.

Трудности в этой области исследований возникали в основном из-за колоссального количества информации, содержавшейся в генах. ДНК одной клетки человека можно сравнить с книгой, где описывается вся история развития этой клетки и информация о ее функционировании. Текст, написанный на одной странице этой книги, будет соответствовать одному гену, содержащему информацию, необходимую для синтеза одного белка. А вся книга будет состоять из миллиона страниц, для нее потребовалась бы книжная полка длиной в тысячу метров. При каждом делении клетки вся эта условная книга копируется, а единственная ошибка на одной из страниц может привести к болезни или смерти. Изменить текст этой книги могут химические вещества или вирусы – и это приводит к онкологическим заболевания, врожденным порокам развития или к наследственным заболеваниям. Если ученый захочет прочитать книгу и найти самые опасные опечатки, то он обнаружит, что ее страницы склеены. Как же можно разделить листы, не повредив при этом текст?

Открыть запечатанную книгу позволяют ферменты рестрикции. Швейцарец Вернер Арбер обнаружил их в начале 1960-х годов, когда изучал изменения, которые происходят в бактериях под воздействием инородной ДНК. Этот процесс называют модификацией, контролируемой клеткой-хозяином. В серии простых, но эффектных экспериментов Арбер показал, что это явление было вызвано изменением ДНК и, видимо, служило для защиты хозяина от чужеродных генов. Чужеродная ДНК, попавшая в бактерию, разрушалась. Поэтому ученый предположил, что бактерии содержат ферменты рестрикции, которые способны распознавать повторяющиеся структурные элементы ДНК и связываться с ними. В местах связывания нити ДНК разъединялись – открывались страницы книги.

Американец Хамилтон Смит проверил гипотезу Арбера. Исследователь выделил один из ферментов рестрикции в чистом виде и показал, что именно он может расщеплять чужеродную ДНК. Смит определил химическую структуру областей ДНК, разъединявшихся под воздействием фермента, а позже обнаружил определенные правила, которые могли применяться для описания ферментов. Все они расщепляли ДНК, причем каждый работал только на определенном участке. С их помощью гигантские молекулы ДНК могли быть разрезаны на заранее известные сегменты, которые впоследствии можно было использовать для структурных исследований или генетических экспериментов.

Последний шаг в развитии технологии редактирования генома сделал еще один американец – Даниел Натанс. Он первым

применил ферменты рестрикции в экспериментальной генетике, и его работа стала источником вдохновения для ученых во всем мире. Расщепив вирусную ДНК с помощью ферментов рестрикции, Натанс построил первую генетическую карту вируса SV40. Методика, разработанная им для этой цели, была позже использована другими учеными для создания более сложных карт. Таким образом, достаточно быстро удалось построить полную генетическую карту вируса, который начал исследовать Натанс.

Применение ферментов рестрикции произвело революцию в генетических исследованиях высших организмов и полностью изменило представления человечества об их геноме. Были обнаружены кодирующие и некодирующие участки ДНК, ферменты рестрикции были использованы также для генной инженерии. С их помощью ученые научились выборочно удалять из клеток части генетического материала или, наоборот, встраивать в ДНК новые фрагменты.

Эти эксперименты почти сразу вызвали опасения этического характера – о копировании человека и редактировании его генома. Но на самом деле в конце 1970-х годов до этого было еще очень далеко. Даже в наши дни ученые делают лишь первые шаги в генной терапии, пытаясь отредактировать геном больных людей и таким образом вылечить их. Людям, живущим в XXI веке, только предстоит увидеть грандиозные успехи генной инженерии, зародившейся именно благодаря работе Арбера, Натанса и Смита. В 1978 году они получили Нобелевскую премию «за открытие ферментов рестрикции и их применение для решения проблем молекулярной генетики».

Кстати

Современные методы редактирования генома с помощью ферментов рестрикции используют конструирование искусственных белков для каждой конкретной манипуляции. В этом заключаются так называемый метод цинковых пальцев и технология TALEN. Но в последнее время появился еще один простой и очень эффективный метод – технология CRISPR-Cas9. Для узнавания нужных фрагментов ДНК она использует искусственную РНК. Этот метод получил широкое распространение благодаря относительной простоте реализации: ведь сконструировать РНК гораздо проще, чем белок.

ГЛАВА 3. Микровраги человеческие: от палочки Коха до ВИЧ

Туберкулезная палочка, или с чего началась микробиология

Роберт Кох

Часто истории исследований, которые триумфально заканчивались Нобелевской премией, происходили благодаря близким людям врачей и ученых. Путь Ильи Мечникова к изучению защитных механизмов организма от инфекций начался с трагического события – смерти от туберкулеза его молодой жены. У Роберта Коха решающий поворот в жизни случился, когда в подарок на свое 28-летие он получил от супруги хороший микроскоп. После этого Кох оставил не очень успешную медицинскую практику, завел кучу лабораторных мышей и целые дни проводил за микроскопом, наблюдая и фотографируя микромир. В результате ученый выделил в чистом виде и описал возбудителей сибирской язвы, туберкулеза и холеры (холерный вибрион), чем завоевал признание в научном мире: стал главой европейских микробиологов и основоположником немецкой школы бактериологов. Нобелевская премия была вручена Роберту Коху в 1905 году «за его исследование и открытия в отношении туберкулеза» – вероятно, потому, что именно это заболевание было самой распространенной причиной смерти в XIX веке, в том числе в Германии.

Слава пришла к Коху благодаря тому, что он открыл и довел до совершенства три революционных метода в исследовании микробов.

Во-первых, до него исследователи наблюдали микробов в их естественной окраске, то есть бесцветными. Учитывая уровень оптики позапрошлого века, это часто не давало возможности даже заметить микроб – особенно если его оптическая плотность мало отличалась от оптической плотности окружающих тканей. Кох применил анилиновые красители, которые избирательно окрашивали только тела микробов, и наблюдения за ними стали гораздо более результативными. Это подняло микробиологические исследования на новый научный уровень.

Во-вторых, Роберт Кох сумел значительно повысить разрешающую способность микроскопа и получить изображения, увеличенные в 900–1400 раз. Для справки: до этого предельное увеличение составляло 400–500 раз. Как Кох добился такого результата? Дело в том, что он использовал иммерсионный объектив: погрузил линзу микроскопа в жидкое масло, что усилило ее выпуклость, и, соответственно, увеличение стало

больше. Микрофотографии окрашенных микробов, которые при этом делал Кох, произвели неизгладимое впечатление на его современников. Но не надо думать, будто у Коха все проходило гладко и что это очень просто – работать с иммерсионным объективом. Когда один из авторов этой книги училась на биофаке МГУ, она с однокурсниками разбила не одно покровное стекло на микробиологических препаратах, пока не научилась точным движением опускать объектив микроскопа ровно на нужную величину, до получения резкого изображения.

В-третьих, Кох изобрел твердые питательные среды. Говорят, это получилось благодаря тому, что он забыл на столе разрезанную картофелину. А вообще-то тогда микробов выращивали в питательном бульоне, что затрудняло получение чистой культуры возбудителя. При нанесении же смеси микробов на твердую питательную среду каждый микроорганизм становился родоначальником собственной колонии на том самом месте, где он на нее попал. Кох использовал несколько таких сред – например, агар-агар и желатин, их до сих пор применяют в биологии для выращивания, изолирования и изучения чистых культур.

Используя эти три метода, Кох добился значимого результата. Ткани умершего туберкулезного больного из клиники, находившейся рядом с его сельским домом, он окрасил метиленовой синькой, а затем едкой красно-коричневой краской, используемой при выделке кожи. Рассматривая препарат в микроскоп, ученый обнаружил слегка изогнутые, окрашенные в ярко-синий цвет палочки. Последователи микробиолога позже назвали их «палочками Коха». Так был открыт возбудитель туберкулеза и началась серьезная борьба с ним.

Еще одна важная заслуга Роберта Коха в том, что он сформулировал научные правила постановки микробиологического эксперимента (и тем самым разработал доказательные основы микробиологии). Вот в чем заключается суть.

1. Микроорганизм всегда встречается при рассматриваемом заболевании и никогда – в здоровом организме или при другой инфекции.

2. Микроорганизм можно выделить и культивировать в чистой культуре.

3. После выделения в чистом виде микроорганизм вызывает рассматриваемое заболевание.

Микроорганизм может считаться возбудителем заболевания только при соблюдении всех трех вышеописанных условий.

Позднее были обнаружены многочисленные исключения из

триады Коха, но для его современников эти правила сыграли громадную роль в доказательстве того, что инфекционные болезни вызывают именно микробы. Сейчас это кажется очевидным, однако в XIX веке для осознания данного факта требовались четкие и методологически безупречные доказательства. Исключение из первого условия – это, например, ставший известным позже факт, что бóльшая часть людей является носителем туберкулезной палочки, однако туберкулез поражает лишь ослабленных людей: недоедающих, живущих в плохих условиях без свежего воздуха и солнца. Чаще всего эти условия наблюдаются при скученном проживании, например, в исправительных заведениях или в больших коммунальных квартирах.

В 1950–60-х годах в СССР велась активная борьба с туберкулезом. Ее отголоски можно и сегодня наблюдать в сталинских домах и хрущевках. Вы наверняка заметили, что в этих домах в туалетной или ванной комнате есть окошко на кухню, через которое проникает солнечный свет. Так увеличивалась инсоляция, и считалось, что это служит профилактикой туберкулеза.

Открыв возбудитель туберкулеза, Кох сразу принялся искать средство для его лечения. Выделив из культуры бактерий туберкулин, он вводил его добровольцам, пытаясь добиться иммунизации – состояния невосприимчивости к возбудителю. И хотя ход мысли Коха был верным, на практике результат лечения оказался отрицательным: людям становилось только хуже. Дело было в аллергических реакциях, которые в то время еще плохо изучили.

Туберкулин так и не применили для лечения туберкулеза, однако его все равно используют в современной медицине. Давайте вспомним пробу Пирке (или Манту), в детстве мы называли след от такого укола «пуговкой». Это и есть туберкулиновая проба. Она представляет собой подкожное или накожное введение туберкулина, призванное выявить наличие специфического иммунного ответа на его введение. Положительный ответ – воспаление в месте введения диаметром более 5 мм – указывает на то, что скорее всего пациент имел контакт с возбудителем туберкулеза. Эта ситуация требует особого внимания. Однако даже очень большие «пуговки» величиной более 10 мм не могут однозначно свидетельствовать о наличии заболевания.

Кстати, молодые и остроумные медицинские журналисты создали телеграм-канал, название которого развенчивает известный миф о том, чего нельзя делать с местом введения

туберкулиновой пробы. Канал называется «Намочи манту». Но вообще-то, в настоящее время более информативную пробу на туберкулез проводят с помощью диаскинтеста, разработанного российскими нанотехнологами. В нем используют не убитые палочки Коха, а рекомбинантный туберкулезный аллерген.

Спустя почти полвека после открытия Коха американский микробиолог Зельман Ваксман получил Нобелевскую премию за открытие антибиотика, эффективно лечившего туберкулез. Это некогда грозное заболевание было взято под контроль и перестало быть основной причиной смертности на планете. По данным ВОЗ за период с 2000 по 2017 год благодаря диагностике и лечению туберкулеза было спасено 54 млн человеческих жизней.

Тем не менее в 2017 году в мире умерли 1,6 млн человек, каждый пятый из них был ВИЧ-положительным, и об этой проблеме мы вскоре поговорим. Что касается туберкулеза, то эта болезнь сделала ответный ход, выработав резистентность (устойчивость) к известным антибиотикам в тех странах, где она все еще встречается. Половина всех новых случаев невосприимчивости туберкулеза к лекарствам приходится на Индию, Китай и Россию. Тем не менее во многих развитых странах туберкулез полностью побежден, и местные эпидемиологи настолько в этом уверены, что в национальном прививочном календаре эта вакцина не упоминается. В России заболеваемость, распространенность и смертность от туберкулеза прогрессивно снижаются с каждым годом. Но ситуацию все равно нельзя назвать благополучной: на 100 000 населения приходится 80 случаев заболевших. Именно по этой причине у нас по-прежнему актуальны регулярные флюорографические обследования и прививка БЦЖ.

Гастрит и язва – не от стресса, а от Хеликобактер пилори

Робин Уоррен
Барри Маршалл

История открытия бактерии Хеликоба́ктер пило́ри (*Helicobacter pylori, X. пилори*) одновременно драматична и показательна. В ней есть гордость и предубеждение, война и языковая разобщенность, удача родиться в нужное время в нужном месте и мужество ученого, который был убежден в своей правоте настолько, что рискнул собственным здоровьем. За последние 145 лет Хеликобактер пилори открывали несколько раз. И только с пятой попытки, когда она была вновь обнаружена – на этот раз австралийским патологоанатомом Робином Уорреном в конце XX века, – Хеликобактер пилори наконец получила свое признание в медицинском мире.

Но обо всем по порядку. В 1875 году немецкие ученые обнаружили спиралевидную бактерию в слизистой оболочке желудка человека. Бактерию не смогли вырастить в известных тогда питательных средах, и вскоре открытие было забыто. Спустя 11 лет профессор Валерий Яворский из Ягеллонского университета Кракова исследовал осадок из промывных вод желудка человека и среди обычных бактерий обнаружил особи необычной спиралевидной формы. Профессор первым предположил возможную этиологическую роль этого микроорганизма в развитии заболеваний желудка. В конце XIX века работы Яворского на эту тему были опубликованы только на польском языке и поэтому не получили широкую известность во врачебном и научном мире. Кстати, это хороший урок для всех ученых и доказательство того, как важно учить иностранные языки, если хочешь быть услышанным научным сообществом.

В следующий раз спиралевидная бактерия была описана в 1893 году итальянским исследователем Джулио Бидзодзеро, обнаружившим ее в кислом содержимом желудка собак.

Уже в XX столетии, в 1974 году, профессор И. А. Морозов из Москвы увидел спиралевидные бактерии в гистологическом материале после хирургической операции больного с язвенной болезнью. Но препятствием к признанию Хеликобактер пилори снова стало отсутствие микробиологического способа ее выращивания: бактерия была забыта еще на десятилетие. Другим фактором, осложнявшим понимание роли Хеликобактер пилори в

развитии гастритов, язв желудка и двенадцатиперстной кишки, было распространенное убеждение медицинского сообщества в том, что в агрессивном, кислом содержимом желудка не может выжить ни один микроорганизм. Для этого были нужны убедительные доказательства, а для этого – культура, в которой могли бы расти Хеликобактер пилори.

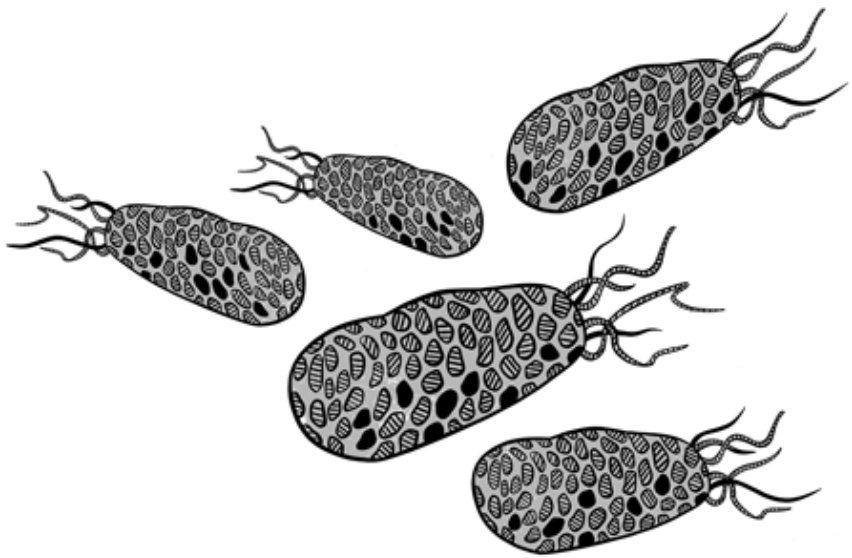


Рис. 17. Бактерии

Патологоанатом из австралийского города Перт Робин Уоррен наблюдал небольшие изогнутые спиралевидные бактерии, обитавшие в нижней части желудка, примерно у половины пациентов, которым была сделана биопсия. Он заметил, что на местах слизистой оболочки желудка, где были обнаружены бактерии, всегда наблюдались признаки воспаления. Молодой клиницист Барри Маршалл заинтересовался результатами Уоррена и вместе с ним исследовал биоптаты 100 пациентов с гастритом. После нескольких попыток Маршаллу удалось культивировать доселе не признанные виды бактерий, и позже их стали обозначать как *Helicobacter pylori*. Ученые обнаружили бактерию почти у всех больных с воспалением желудка, двенадцатиперстной кишки или язвы желудка. Основываясь на этих результатах, они предложили, что Хеликобактер пилори связана с возникновением этих заболеваний.

Заслуга Робина Уоррена состоит в том, что он смог наконец-то вырастить Хеликобактер пилори в традиционных для микробиологических исследований чашках Петри – плоских круглых стеклянных емкостях. Его молодой коллега Барри

Маршалл пошел еще дальше: поставил один из самых убедительных и чистых экспериментов – на самом себе. Он выпил содержимое чашки Петри с культурой Хеликобактер пилори, после чего у него развился гастрит. В слизистой его желудка обнаружили бактерию. Так были выполнены все три постулата Коха и доказано, что явилось возбудителем болезни.

1. Хеликобактер пилори постоянно встречалась в организме больных с гастритом.

2. Бактерию выделили из анализов больного, а штамм вырастили в чистой культуре.

3. При заражении чистой культурой Хеликобактер пилори здоровый человек заболел.

Миф о том, что гастрит возникает от стресса и неправильного питания, был развенчан. Причина гастрита – инфицирование человека бактерией Хеликобактер пилори.

Маршалл сумел излечить свой хеликобактерный гастрит с помощью двухнедельного курса лечения солями висмута и метронидазолом. Вместе с Робертом Уорреном он сумел показать, что антибиотики эффективны в лечении многих, если не большинства, случаев гастрита, язв желудка и двенадцатиперстной кишки. По последним данным, на долю язвенной болезни, связанной с инфекцией Хеликобактер пилори, во всем мире приходится 38 % язв желудка и 56 % язв двенадцатиперстной кишки. Эта спиралевидная бактерия пожизненно колонизирует примерно 50 % всех людей в развитых странах, а в развивающихся странах могут быть заражены практически все. Колонизация, как правило, происходит в раннем детстве, часто путем передачи от матери к ребенку, и бактерии могут оставаться в желудке в течение всей жизни человека. У большинства людей инфекция протекает бессимптомно, однако 10–15 % инфицированным через некоторое время ставят диагноз «язвенная болезнь» – причем чаще в двенадцатиперстной кишке, чем в самом желудке. Сегодня случаи с доказанной лабораторными тестами хеликобактерной этиологией лечат, как правило, антибиотиками в совокупности с ингибиторами протонной помпы.

Но неконтролируемое применение антибиотиков для искоренения Хеликобактер пилори у здоровых носителей может привести к резистентности бактерий против этих препаратов. Поэтому лечение начинают только у больных с установленным диагнозом язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки.

Надо сказать, в случае с Хеликобактер пилори разгаданы пока еще не все загадки. С хеликобактерной инфекцией связаны

не только язвы и гастриты. Обширное заселение этой бактерией слизистой желудка может привести к его раку, а этот диагноз по-прежнему занимает второе место в мире среди причин смертей от онкологических заболеваний. Так считать ли ситуацию, когда человек инфицирован Хеликобактер пилори, болезнью? Надо ли от нее обязательно избавляться и возможно ли это? Хеликобактерную инфекцию диагностируют с помощью теста на антитела, путем идентификации этого микроорганизма в биоптатах, взятых при эндоскопии или с помощью дыхательного теста, который улавливает в желудке фермент, производимый бактерией.

После того как стала известна роль бактерии в развитии гастрита и язвы, ученые начали искать «истинные» причины возникновения и других заболеваний: болезни Крона, язвенного колита, ревматоидного артрита и атеросклероза. В данный момент исследования продолжаются.

Опасные вирусы ВИЧ и ВПЧ

Франсуаза Барре-Синусси
Люк Монтанье
Харальд цур Хаузен

Нобелевская премия по физиологии или медицине за 2008 год – особая. Она присуждена трем ученым за два открытия, связанные с вирусами, которые вызывают тяжелые заболевания. Это то, что их объединяет. Но есть и принципиальное различие.

1. Первое открытие связано с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), который называют современной чумой. У этого вируса две особенности. Во-первых, он распространяется нетрадиционным образом: через иглы наркоманов, незащищенные гомо- и гетеросексуальные контакты, при переливании зараженной крови. Во-вторых, в отличие от всех предыдущих эпидемий, это медленная инфекция, убивающая, как правило, в течение 10 лет. Пока радикального средства излечения от ВИЧ не нашли, но в случае быстрого обнаружения болезни и лечения антиретровирусными препаратами продолжительность жизни инфицированных людей значительно увеличивается.

> ВИЧ обнаружили французские вирусологи Франсуаза Барре-Синусси и Люк Монтанье. Вирусная инфекция была идентифицирована ими в лимфоцитах пациентов на ранних стадиях приобретенного иммунодефицита и в крови у пациентов с поздней стадией заболевания. На основе морфологических, биохимических и иммунологических свойств они охарактеризовали этот ретровирус как первый известный человеческий лентивирус.
>
> Лентивирусы обладают уникальной среди ретровирусов способностью размножаться (реплицироваться) в неделящихся клетках, к тому же они могут доставлять значительное количество генетического материала в клетку хозяина. Внедряясь в лимфоциты (клетки иммунной системы), ВИЧ массивно самовоспроизводится и выводит из строя Т-лимфоциты, что приводит к угнетению иммунитета. Открытие было одним из предпосылок современного понимания биологии болезни и ее антиретровирусного лечения.

2. Вирусом папилломы человека (ВПЧ) заражены 50–80 %

населения, ВПЧ – наиболее распространенная инфекция, передающаяся половым путем. Ежегодно у 500 000 женщин во всем мире диагностируют рак шейки матки, и почти половина из них от этой болезни умирает. Это онкологическое заболевание – второе среди наиболее часто встречающихся форм рака у женщин (первое место – у рака молочной железы). ВПЧ обнаруживается у 99,7 % женщин с гистологически подтвержденным раком шейки матки. Более 5 % всех случаев рака во всем мире вызвано постоянным реинфицированием этим вирусом.

Известно более 100 типов ВПЧ, но не все из них так опасны. Около 40 вирусов инфицируют половые органы, 15 вызывают повышенный риск развития рака шейки матки. В 1970-х годах немецкий врач, профессор Харальд цур Хаузен, предположил, что если опухолевые клетки содержат онкогенный вирус, они должны нести вирусную ДНК, интегрированную в их геном. Следовательно, гены ВПЧ, вызывающие клеточную пролиферацию (размножение), могут использоваться при поиске опухолевых клеток с такой вирусной ДНК. Харальд цур Хаузен более 10 лет разрабатывал эту идею и искал разные типы ВПЧ. Поиск затруднялся тем, что только часть вирусной ДНК была интегрирована в геном хозяина. В 1983 году при биопсии рака шейки матки исследователю удалось идентифицировать ВПЧ-ДНК и таким образом обнаружить новый тип опухолевого ВПЧ – ВПЧ 16. Через год он выделил онкогенные ВПЧ 16 и 18 у пациенток с раком шейки матки.

Исследования Харальда цур Хаузена, в которые поначалу мало кто верил, имели революционные последствия. Открытие достоверной связи рака с вирусом привело к созданию первой противораковой вакцины. Вакцина против наиболее опасных типов ВПЧ 16 и 18 появилась в 2010 году и показывает защитный эффект в 90 % случаев.

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)

Первоначально ВИЧ возник у шимпанзе. Вероятно, вирус передался людям через кровь от обезьян, на которых велась охота. Расчеты кратности мутирования вируса показывают, что первая передача от обезьяны человеку произошла в Западной Африке около 1900 года. До сих пор неясно, почему эпидемия так резко начала распространяться с 1970 года.

Медицинские отчеты о новом синдроме иммунодефицита появились в 1981 году в журнале *The New England Journal of Medicine*, и сразу после этого начался поиск возбудителя. В статье было описано течение болезни у 19 молодых людей с тяжелой

иммунной недостаточностью, 12 из них на момент написания статьи уже умерли. Все страдали от необычных инфекций и форм рака, которые, как правило, наблюдались только у людей пожилого возраста или у тех, кто получал препараты, угнетающие иммунную систему. Поскольку большинство из той группы мужчин были гомо- или бисексуальны, это состояние сначала было названо «гей-иммунодефицитом». Позже выяснилось, что инфекция может передаваться не только посредством сексуальных контактов, но и от матери ребенку, а также через кровь и получаемые из нее продукты. В следующем, 1982 году было решено, что новое серьезное заболевание следует назвать синдромом приобретенного иммунодефицита. Так СПИД получил свое окончательное название.

Символично, что ВИЧ был обнаружен в Париже, в Институте Пастера, где долгие годы работал Илья Мечников, получивший Нобелевскую премию за изучение иммунитета (см. главу «Открытие иммунитета»). Вирусологи Франсуаза Барре-Синусси и Люк Монтанье анализировали образцы, полученные от врачей, у которых были пациенты с этим загадочным иммунным дефицитом и многими сопутствующими заболеваниями. Ученые полагали, что их причиной может быть ретровирус. Термин «ретровирус» означает, что геном вируса представляет собой РНК. Чтобы включиться в геном своей клетки-хозяина, вирусу сначала необходимо транслировать РНК в ДНК, для этого нужен фермент, называемый обратной транскриптазой.

После встречи вирусологов и клиницистов в декабре 1982 года Франсуаза Барре-Синусси и Люк Монтанье получили пробы из лимфатических узлов пациента с ранними признаками заболевания. Ученым повезло, что для исследования была предоставлена не кровь: ведь лимфа содержала в тысячи раз больше вирусов, чем клетки крови. Клетки из лимфатических узлов культивировали и обнаружили активность ретровирусного фермента, обратной транскриптазы, что прямо указывало на репликацию ретровируса. Удалось найти и клетки-мишени, в которых вирус реплицировался. Ими оказались задействованные в иммунной защите лейкоциты, а именно Т-хелперы. Инфицированные клетки агрегировали, то есть слипались и переставали функционировать. В результате иммунная защита теряла свою эффективность.

С помощью электронного микроскопа было показано, как новообразованные вирусные частицы выделяются из инфицированных клеток. Внешний вид вируса и его морфология показали, что он принадлежит к подгруппе ретровирусов. Это был лентивирус. Кто занимался музыкой, наверняка помнит темп

lento, это слово означает «медленно». Вирусы были названы так, потому что приводили к медленно развивающимся заболеваниям. Однако в деле размножения вирус очень даже быстр: за короткое время появляется огромное количество вирусов, которые убивают зараженные клетки. Выделенный французскими учеными вирус был первым вирулентным лентивирусом, опасным для людей.

В 1985 году был сделан первый коммерческий анализ крови для обнаружения вируса под названием ВИЧ-1, вирус иммунодефицита человека тип 1. Спустя четыре года после идентификации ВИЧ Всемирная организация здравоохранения приступила к реализации программы по борьбе с ВИЧ в мировом масштабе. Через год стало ясно, что эпидемия распространилась по всему миру и затрагивает 1 % населения Земли. Однако врага уже знали в лицо, стратегия и тактика борьбы с ним была намечена.

После того как вирус был распознан и определены антитела, которые иммунная система производит для борьбы с инфекцией, стала возможной диагностика болезни и определены меры предосторожности при переливании крови. Клонирование вируса позволило идентифицировать специфичные белки и, как следствие, разработать противовирусные препараты. Это, в частности, позволяет предотвратить заражение детей, рожденных инфицированными матерями.

Как только стало ясно, что за вирус вызывает эту незаметную на первых порах болезнь, ученые стали работать над созданием эффективной вакцины. К сожалению, она пока не создана: во-первых, потому, что ВИЧ очень изменчив и быстро меняет форму, а во-вторых, потому, что вирус заражает и убивает именно клетки иммунной системы, которые имеют решающее значение для запуска иммунного ответа. Пока еще нет и лечения, избавляющего от причины болезни, но если терапия сочетается с противовирусными препаратами, пациенты могут долгие годы жить почти нормальной жизнью. Доступ к такому лечению сегодня имеют 3 млн человек. Проблема остается актуальной, так как из 33 млн инфицированных людей во всем мире от 6 до 9 млн нуждаются в лечении. Из-за того, что мы не часто видим тяжелобольных, истощенных СПИДом людей, может создаться впечатление, будто эпидемии нет и болезнь хорошо излечима. Это не так. Как ни печально, Россия сегодня одна из лидирующих стран по темпам роста количества ВИЧ-инфицированных людей. Кто-то объясняет это высоким уровнем наркомании, кто-то сексуальной непросвещенностью населения, кто-то недостаточным влиянием религии. Сексуально активные мужчины и женщины должны беспокоиться о том, чтобы

защититься при случайных половых контактах. На практике, однако, этого не происходит. До сих пор среди них широко распространены следующие мифы[2].

1. Это редкое заболевание: носителей ВИЧ всего 1 %, поэтому вероятность заболеть слишком низка, чтобы каждый раз предохраняться от нее с помощью презерватива.

2. СПИДом болеют только наркоманы, проститутки и гомосексуалисты, а приличных людей это не касается. Главное – выбирать нормальных партнеров для секса.

3. Если все же был подозрительный сексуальный контакт, надо через месяц сделать анализ ПЦР (полимеразная цепная реакция), и если результат отрицательный – успокоиться.

4. Больных ВИЧ-инфекцией можно легко определить на вид: они плохо выглядят и часто болеют.

5. Религия защищает от СПИДа, особенно в мусульманских странах, строгим запретом добрачного секса.

6. Почему-то СПИД обнаружили только в XX веке, а раньше его не было. ВИЧ не существует, это заговор.

Последний миф особенно живуч. Его поддерживают так называемые ВИЧ-диссиденты, призывающие к отказу от лечения. Среди них есть и дипломированные врачи. Пожалуй, вместе с «антипрививочниками» они представляют наибольшую опасность для здравоохранения.

Открытие вируса папилломы человека, вызывающего рак шейки матки

До 1974 года в научных кругах преобладало мнение, что причина рака шейки матки – вирус простого герпеса. Харальд цур Хаузен впервые предположил, что заболевание возникает из-за хронической инфекции, вызванной еще неизвестными типами вируса, и несколько лет проверял свою гипотезу. Он предположил, что если в опухолевых клетках содержится вирус, вызывающий рак, значит, в них можно обнаружить вирусную ДНК. Встроенная в гены раковых клеток вирусная ДНК может находиться там долгое время в неактивном состоянии, без образования новых вирусных частиц. Чтобы отследить ее, цур Хаузен построил короткие одноцепочечные сегменты ДНК и использовал их в качестве «приманки» для вылова вирусной ДНК из опухолевых клеток.

Такая «рыбалка на живца» возможна, потому что основания, которые составляют геном, могут быть соединены только определенным образом по принципу комплементарности (например, аденин-тимин). Методика использования

определенной генетической последовательности для поиска согласованной последовательности называется гибридизацией. Было известно, что после заражения определенным штаммом вируса папилломы человека на теле начинают расти бородавки. Сначала цур Хаузен использовал короткие одноцепочечные сегменты вирусной ДНК, изолированные из клеток подошвенных бородавок. Используя эти «наживные крючки», цур Хаузен легко смог получить вирусную ДНК из других подошвенных бородавок и доказал тем самым, что методика работает. Он также извлек вирусную ДНК из бородавок кожи. После нескольких безуспешных попыток получить таким же образом ДНК ВПЧ в клетках из генитальных бородавок и цервикальных опухолей он поменял метод: внес изменение в гибридизацию. Теперь «наживка» не в точности соответствовала вирусной ДНК в клетке. После десятилетней работы ему, наконец, удалось извлечь фрагменты ДНК ранее неизвестного типа ВПЧ из цервикальных опухолевых клеток цервикального канала при раке шейки матки. В 1983 году цур Хаузен описал первый тип вируса, вызывающий рак. Его назвали ВПЧ 16. Позже он определил еще один новый тип ВПЧ в клетках цервикальных опухолей других пациенток – ВПЧ 18. Затем ученый клонировал эти два типа ВПЧ, вызывающих рак.

Рак шейки матки, вызванный ВПЧ-инфекцией, – заболевание, которое передается преимущественно половым путем. Попав в организм, ВПЧ инфицирует базальный слой эпителия, причем в разной степени: сильнее всего страдает зона перехода многослойного плоского эпителия в цилиндрический. В зараженной клетке вирус может иметь две формы. Та, что существует вне хромосом, – эписомальная, обычно доброкачественная. А та, что интегрирована в геном клетки, злокачественная.

ВПЧ, передающиеся половым путем, представляют наибольшую опасность для женщин. У мужчин по анатомическим причинам не может быть рака шейки матки, но зато они могут быть носителями вируса, и хотя редко, но этот же вирус может вызвать у них онкологические заболевания других органов.

Однако, в первую очередь, именно женщинам перед вступлением в половую связь важнее думать о защите от ВПЧ. Надежное средство профилактики ВПЧ – презерватив, а также вакцина, которую рекомендуют вводить до начала половой жизни, как правило, в возрасте 12–13 лет, но при необходимости – до 26 лет. В настоящее время для профилактики развития рака шейки матки разработаны и применяются три вакцины от ВПЧ наиболее онкогенных типов, которые входят в

календарь рекомендуемых прививок. Кроме этого, в некоторых странах рекомендуют прививать мальчиков школьного возраста. Рекомендация связана с тем, что ВПЧ у лиц мужского пола, по-видимому, является причиной рака полового члена, а также анального отверстия и ротоглотки. Хорошая новость для женщин заключается в том, что рак шейки матки – один из видов онкологических заболеваний, который при раннем выявлении излечивается полностью.

Разработку вакцины от ВПЧ ускорило то, что Харальд цур Хаузен щедро делился с другими исследователями выделенными и клонированными типами злокачественных вирусов.

Несколько фактов о ВПЧ:

1. ВПЧ – основная причина развития рака шейки матки, а им, по статистике, ежегодно заболевают более полумиллиона женщин.

2. При инфицировании около 90 % женщин в течение 9–24 месяцев избавляются от ВПЧ без всякого лечения – благодаря собственному иммунитету.

3. Заражение ВПЧ в большинстве случаев длительное время никак не проявляется.

4. При инфицировании ВПЧ онкогенных типов риск заболеть раком шейки матки увеличивается в 300 раз.

5. При отсутствии ВПЧ рак шейки матки практически не встречается.

6. Папиллома-вирусы делят на три группы: низкого, среднего и высокого онкогенного риска – в зависимости от их способности вызывать рак. При раке шейки матки наиболее часто обнаруживают ВПЧ двух типов: 16 – в 50 % и 18 – в 10 % случаев.

7. ВПЧ – причина возникновения бородавок, папиллом и остроконечных кондилом. Эти образования в большом количестве содержат вирус. Перечисленные кожные образования некрасивы, но не контагиозны (то есть не заразны), и от них избавляются исключительно по эстетическим соображениям.

ГЛАВА 4. Медицинские методы: от пересадки органов до ЭКО

Пересадка органов и кровеносных сосудов

Алексис Каррель

Если встанет вопрос: «Назовите открытие, которое краеугольным камнем легло в основу здания всей современной трансплантологии и сердечно-сосудистой хирургии», то ответ, несомненно, будет: «Работа биолога и хирурга Марии Йозефа Аугуста Карреля-Биллиарда, нобелевского лауреата из французского Лиона». Алексис Каррель открыл способ сшивания поврежденных кровеносных сосудов так, чтобы обеспечить беспрепятственный кровоток в месте шва и одновременно предотвратить послеоперационное кровотечение, тромбозы, вторичные рубцовые изменения и сужение сосуда.

Это открытие сделало возможной реконструкцию сосудов, когда поврежденный участок сосуда удаляется и заменяется другим, здоровым. Каррель разработал способы консервации и хранения в течение нескольких суток участков кровеносных сосудов, артерий, вен и органов, подготовленных для пересадки.

Свой путь к нобелевскому открытию Каррель начал с экспериментальной работы. Он удачно пересаживал целые органы животных: долю щитовидной железы, яичники, селезенку, почку, обе почки, а однажды даже удачно пересадил собаке лапу. Тем самым ученый доказал, что пересаженные органы могут приживаться и выполнять свои функции.

Нобелевская премия Алексису Каррелю была присуждена в 1912 году «в знак признания его работы по сосудистому шву и трансплантации кровеносных сосудов и органов».

Эта аутотрансплантация сосудов стала основой многочисленных высокотехнологичных операций, которые делают и в настоящее время. Например, при проведении операции коронарного шунтирования поврежденную коронарную артерию заменяют полноценной веной, взятой с ноги того же пациента. Результаты открытий Карреля были использованы при разработке аппаратов искусственного дыхания и кровообращения, они легли в основу современной сосудистой хирургии.

Операции на сосудах вошли в широкую практику после 1940-х годов, когда стали доступны антибиотики и антикоагулянты. Трансплантация же органов от одного человека другому стала возможной после открытия средства, которое предупреждает отторжение пересаженного органа (см. главу «Как усмирить иммунитет при трансплантации органов»).

До открытия метода Карреля в течение долгого времени

велись поиски способа, как закрыть рану в стенке кровеносного сосуда, не прерывая кровообращение в конечности и, соответственно, не провоцируя риска последующей гангрены и ампутации. Если сосуд был разрезан в результате травмы или ранения, необходимо было быстро соединить его края, чтобы восстановить кровообращение. Чаще всего в таких случаях накладывали швы, но использовали также трубочки из кости или из рассасывающегося металла – серебра или золота. Эти трубочки помещали в поврежденную артерию, или же, наоборот, артерия была помещена в них. Однако эти и другие процедуры давали нестабильные результаты. Каррель стал первым, кто изобрел надежный метод сшивания сосудов. Этот французский хирург накладывал на разорванный сосуд три фиксирующих стежка на равном расстоянии. Это превращало крайне неудобное для сшивания круглое отверстие сосуда в треугольное. Затем Алексис Каррель легко сшивал края сосудов обычными хирургическими круглыми иглами – просто очень тонкими. В них были продеты шелковые нити. Одной из главных проблем при работе с сосудами было образование тромбов. Чтобы избежать ее, Каррель покрывал инструменты и нитки парафином.

Надо сказать, что отец Карреля занимался производством шелка, а маленький Алексис с детства учился вышивать шелковыми нитями и весьма преуспел в этом. Так довольно странное для мальчика умение привело его в 1902 году к первым научным публикациям на тему замены и реконструкции поврежденных сосудов, а затем – и к удачным экспериментам по трансплантации, которые потрясли мир.

Метод Карреля оказался надежным и эффективным, поскольку он защищал от послеоперационных кровотечений. А самое главное – в месте шва не образовывался стеноз, то есть сужение сосуда, которое обычно приводит к частичному или полному нарушению его проходимости.

Завершив обучение во Франции, Каррель переехал в Канаду, намереваясь заняться животноводством. Однако он так и не успел поменять профессию и стать фермером, потому что его пригласили на кафедру физиологии Чикагского университета на должность ассистента. Здесь с 1904 по 1906 год он усовершенствовал свою хирургическую технику и провел первые операции по трансплантации органов – они стали возможны благодаря разработанному им методу сшивания сосудов и, конечно же, благодаря наработанному мастерству.

В Чикаго, а затем и в Институте Рокфеллера в Нью-Йорке Каррель продолжал совершенствовать свой метод не только на крупных, но и на самых мелких сосудах. Ему удалось заменить

участок артерии отрезком вены такой же длины. Он восстанавливал отверстия в стенке сосуда животного тканями из другого сосуда, кусочками склеры, а также сосудами, взятыми у других животных, и даже трубочкой из обычной резины. Результаты оказались удовлетворительными и через месяцы, и даже спустя несколько лет.

Чтобы всегда иметь под рукой материал для замены участка сосуда, Каррель экспериментировал с их сохранением: держал в холодильнике, в физиологическом растворе соли и в растворе Локка, то есть в вазелине на льду. Даже через несколько месяцев ткани оставались в идеальном состоянии. Если же сосуд стерилизовали (например, кипячением) или консервировали (формалином или любым другим методом), он становился непригодным для трансплантации. Найдя оптимальные условия для хранения трансплантационного материала, Каррель смог проделать свои знаменитые эксперименты: пересадить от одного животного другому половину щитовидной железы, селезенку, яичники, почки – и они продолжали функционировать. В девяти из четырнадцати случаев, когда почки были вырезаны, промыты струей воды, а затем снова вшиты, животные жили в течение длительного времени после операции. Собака, которой удалили обе почки и трансплантировали одну чужую, через два с половиной года умерла. Но причиной смерти стало кишечное заболевание, никак не связанное с этой операцией. Что касается трансплантированной почки, то при обследовании она оказалась нормальной.

Каррель, не принявший в свое время гражданство ни Канады, ни США, в 1941 году был отозван из США во Францию в связи с началом Второй мировой войны. Он служил в медицинских частях французской армии и использовал свой метод сшивания сосудов при лечении раненых солдат.

Надо сказать, что на этом этапе биография Марии Йозефа Аугуста Карреля-Биллиарда не совсем однозначна. Во время войны он не отказывался сотрудничать с нацистами – и это у многих вызывает противоречивые чувства. Например, не так давно улица, названная в честь ученого, была переименована. Что касается его имени, то оно вспоминается все реже – в отличие от его открытия, которым пользуются все современные трансплантологи.

Один из известных опытов Карреля – культивирование живых тканей в лабораторных условиях – имеет непосредственное отношение к теме продления жизни. Каррель с коллегами брал кусочек соединительной ткани сердца куриного эмбриона и помещал в питательную среду. Клетки продолжали жить и

размножаться все то время, пока им обновляли питательную среду. Культивирование клеток привлекло всеобщий интерес: в результате линию клеток соединительной ткани поддерживали в течение 24 лет – культура пережила самого ученого.

В этом эксперименте явно был нарушен предел Хейфлика (см. главу «Теломера, преодолевшая предел Хейфлика»), кроме того, это происходило с делением нормальных незлокачественных клеток. Однако позже была указана некорректность этого эксперимента: оказывается, при обновлении питательной среды в ней оказывались молодые клетки соединительной ткани сердца куриного эмбриона. За счет них культура постоянно обновлялась. Так была восстановлена незыблемость предела Хейфлика.

Электрокардиография: что скрывает сердце

Виллем Эйнтховен

В последние 100 лет электрокардиограмма (ЭКГ) стала рутинной процедурой: ее можно сделать в любой районной поликлинике. При этом ЭКГ совершенно безопасна и очень информативна. Этим мы обязаны нидерландскому физиологу Виллему Эйнтховену.

Еще в 1880 году было замечено, что при сокращении сердца на поверхности тела возникают слабые электрические токи. Так родилась электрофизиология – наука об электрических явлениях, возникающих в процессе жизнедеятельности организма. Через семь лет физиологи обнаружили, что изменения потенциалов сокращении сердца можно записать с помощью электродов, наложенных на поверхность тела. Токи отмечались с помощью прибора, ртутный столбик которого реагировал на электрическое поле. При этом записывалась еще очень допотопная и несовершенная ЭКГ. Когда Виллем Эйнтховен еще учился в Утрехтском университете на врача-физиолога, он зарекомендовал себя как весьма разносторонний человек. Он был талантливым спортсменом, возглавлял союзы гимнастов и фехтовальщиков и основал в Утрехте студенческий клуб по гребле. Получив во время спортивных занятий травму лучезапястного сустава, он внимательно наблюдал за течением процесса, а потом опубликовал научную работу о функции локтевого и плечевого суставов, основанную на этих наблюдениях. Одно время Эйнтховен увлекался офтальмологией, изучал физические свойства света и их влияние на мышцы глаза. Он накопил большой опыт в разработке самых совершенных для своего времени приборов, позволявших делать количественную оценку физиологических процессов.

Начав заниматься ЭКГ, Эйнтховен подолгу проводил математические расчеты, чтобы получить точные данные, основываясь на показаниях несовершенного еще прибора. Чтобы минимизировать эти вычисления или совсем их избежать, Виллем решил создать устройство, с помощью которого можно было бы сразу записывать небольшие колебания электрических потенциалов. Через шесть лет молодой ученый сконструировал струнный гальванометр, состоявший из кварцевой проволоки, которая удерживалась под напряжением в магнитном поле. Проволока была настолько тонкой и легкой, что колебалась под

воздействием воздуха и мгновенно реагировала на любые изменения электрического поля. Когда по проволоке проходил ток, она, в зависимости от его силы, отклонялась больше или меньше. Перемещения проволоки фотографировались на движущейся ленте.

После того как Эйнтховен убедился в надежности измерений прибора и тщательно проанализировал его физические характеристики, он в 1909 году опубликовал его первое подробное описание. Интерес к струнному гальванометру распространился очень быстро. Его признала и научная медицинская общественность, и практикующие врачи. Сразу несколько известных фирм по производству медицинского оборудования стали поставлять струнные гальванометры в больницы.

Одним из первых результатов использования прибора стала демонстрация того, что у каждого человека есть своя индивидуальная ЭКГ, но при этом электрокардиограммы всех людей в основном сходны. Этот факт очень важен, ведь сердечно-сосудистые заболевания разных людей достаточно характерно проявляют себя в электрокардиограмме.

ЭКГ, записанная с сердца человека, состоит из нескольких зубцов и комплекса колебаний, которым Виллем Эйнтховен дал названия: P, QRS и T. Они употребляются до сих пор. Небольшой зубец P отражает электрическую активность предсердий, а быстрый высокоамплитудный комплекс QRS и медленный зубец T – электрическую активность желудочков. Ученый установил также три точки на теле, куда следует накладывать электроды. Эти точки называют отведениями: на правой и левой руках отведение I, на правой руке и левой ноге – II, а на левой руке и левой ноге – III. Три отведения образуют равносторонний треугольник. Эйнтховен обнаружил, что сумма потенциалов в отведении I и III равна потенциалу в отведении II. Он снял множество ЭКГ у здоровых людей и у тех, кто страдал нарушениями ритма сердца, и показал, как аритмия связана с сердечными тонами.

Струнный гальванометр Виллема Эйнтховена произвел настоящую революцию в изучении заболеваний сердца. С помощью этого прибора врачи получили возможность точно регистрировать электрическую активность сердца и стали использовать ее для неинвазивной (то есть без проникновения внутрь тела) диагностики заболеваний сердца и для мониторинга эффективности лечения. Свое изобретение Эйнтховен сделал в 1903 году. За него и за последующие исследования в 1924 году ему была присуждена Нобелевская премия «За открытие

механизма электрокардиограммы».

Сегодня простота, доступность и безвредность электрокардиографического исследования могут сыграть с нами злую шутку. Дело в том, что при отсутствии явной патологии сердца интерпретировать результаты ЭКГ может только квалифицированный врач-терапевт или кардиолог. В противном случае некоторые индивидуальные особенности ЭКГ, не требующие никакого лечения, могут тем не менее привести к каскаду дальнейших ненужных обследований. Поэтому врачи доказательной медицины предупреждают: если сердце не беспокоит, делать ЭКГ без показаний, «на всякий случай» не следует.

Катетеризация сердца

Вернер Форсман, Андре Курнан, Дикинсон Ричардс

Сердце – чуть ли не самый трудолюбивый орган нашего организма. Его незаменимость и важное значение для здоровья и долгой качественной жизни доказывает, например, тот факт, что до недавнего времени на первом месте среди причин смертности во всем мире стояли сердечно-сосудистые заболевания. За последние несколько лет ситуация изменилась, потому что на борьбу с этими заболеваниями были брошены огромные силы. У истоков этой борьбы стояли Вернер Форсман, Дикинсон Ричардс и Андре Курнан. В 1956 году за «открытия, касающиеся катетеризации сердца и патологических изменений в системе кровообращения» им была присуждена Нобелевская премия.

Открытие началось с эксперимента молодого немецкого врача Вернера Теодора Отто Форсмана. До 1929 года считалось, что введение катетера в сердце вызовет его остановку, поэтому экспериментов в этой области проводилось очень мало и ставились они в основном на кадаврах, то есть трупах. Вернер решил доказать безопасность этого метода. В Эберсвальдской хирургической клинике недалеко от Берлина он провел серию экспериментов, чтобы с помощью катетеризации изучить анатомические и функциональные особенности человеческого сердца при его заболеваниях. В качестве подопытного выступал сам Форсман. Он уговорил одного из сотрудников клиники помочь провести эту процедуру. Тот ввел трубку длиной примерно 65 см и диаметром 1 мм в локтевую вену Форсмана, но когда начал продвигать катетер к сердцу, испугался за жизнь Вернера и прекратил опыт. Однако ученый не сдался.

Через неделю он повторил попытку катетеризации собственного сердца уже с помощью одной только медсестры. Проведя местное обезболивание, Форсман сделал на руке разрез, обнажил вену, ввел в нее катетер и стал продвигать его, пока тот не вошел в правое предсердие. Процедура проходила под контролем рентгена, и роль медсестры заключалась в том, что она держала перед экраном рентгеновского аппарата зеркало, повернув его к Форсману, чтобы он видел движение катетера. Опыт завершился, когда ученый убедился, что кончик трубки достиг сердца. Впоследствии Вернер проделал еще девять аналогичных катетеризаций. В двух случаях он вводил в кровь контрастное вещество, что позволило ему сделать детальные рентгеновские снимки сердца. Впоследствии эти снимки

подтвердили открытие ученого.

Итак, рискованным экспериментом на самом себе Вернер Форсман показал, что возможно прямое измерение давления в правом желудочке при помощи введения катетера через локтевую вену. Это открытие имело огромное значение для изучения патологических изменений в системе кровообращения, которые практически не могли быть воспроизведены в экспериментах на животных. Это также открыло возможности для рентгенологического исследования правой стороны сердца и легочных сосудов с помощью введения в эти органы контрастных веществ.

Что произошло в жизни Вернера Форсмана после того, как он сообщил о результатах своих исследований на XXV конференции Германского хирургического общества в апреле 1931 года? Услышал ли он аплодисменты, получил ли заслуженное признание? А может, ему предложили продолжить эксперименты, дали дополнительное финансирование и престижную должность в Эберсвальдской клинике? Нет, авторитеты немецкой медицины не оценили важность открытия Вернера.

Спустя год один из основоположников немецкой торакальной хирургии Фердинанд Зауэрбрух принял молодого ученого на работу в берлинскую больницу Шарите. Но тут одна из газет опубликовала сенсационное сообщение о тех самых опытах в Эберсвальдской клинике. На Форсмана обрушился шквал критики со стороны коллег, а Зауэрбрух назвал его шарлатаном и уволил. Ни в Германии, ни вообще в Европе Вернер не нашел поддержки и понимания медицинского сообщества. Ученый был настолько подавлен случившимся, что решил не продолжать исследований.

Примерно в это же время в Нью-Йорке физиолог Андре Курнан и кардиолог Дикинсон Ричардс проводили измерения параметров кровообращения в различных патологических условиях. Узнав об эксперименте Форсмана, они решили разработать аналогичный метод для измерения давления крови в полостях сердца и легочного кровотока. В 1930 году они начали серию экспериментов, направленных на развитие метода катетеризации сердца, предложенного Форсманом, и к 1936 году осуществили эту манипуляцию на собаках и шимпанзе в кардиопульмонологической лаборатории в Бельвю. Ученым надо было решить две проблемы. С одной стороны, катетер должен был быть достаточно жестким, чтобы точно передавать пульсовое давление через столб жидкости высотой 122 см, а с другой – достаточно подвижным, чтобы безопасно продвигаться по сосудам и полостям сердца, не повреждая их. Первые катетеры – с внутренним диаметром чуть больше миллиметра – были сделаны

из ткани, пропитанной пластиком. Катетер заполнялся физиологическим раствором, а его наружный конец прикреплялся к манометру – прибору, используемому для измерения кровяного давления.

Прошло еще пять лет, и в 1941 году Курнан с Ричардсом и коллегами произвел первую со времени эксперимента Форсмана катетеризацию сердца. Они обнаружили, что катетеры можно оставлять в кровеносном русле до семи часов, и при этом не образуются тромбы, не появляются другие проблемы: тем самым была подтверждена относительная безопасность процедуры. Катетеризация позволяла измерять содержание кислорода, углекислого газа и сердечный выброс – объем крови, выбрасываемый каждым желудочком за определенное время. Кроме того, исследователи получили возможность измерять общий объем крови, а также кровяное давление в правом предсердии, правом желудочке и легочной артерии. Такая информация позволила врачам рассчитывать скорость легочного кровотока. В метод Форсмана было внесено несколько незначительных улучшений, но главным во всей этой истории было то, что солидная исследовательская группа, работавшая в уважаемой клинике, признала открытие немецкого ученого. В 1941 году Курнан, Ричардс и их команда опубликовали отчет о катетеризации сердца человека, и метод начал свое триумфальное шествие в мире клинической медицины. Впрочем, еще в конце 1940-х годов катетеризацию сердца уже использовали в нескольких академических медицинских центрах США.

Во время Второй мировой войны катетеризация сердца помогла решить серьезную проблему вторичного раневого шока – так называют состояние, когда через несколько часов после тяжелой травмы у раненого вдруг проявлялся недостаток кровообращения. Курнан, Ричардс и их коллеги показали, что его причина – значительное уменьшение минутного объема вследствие уменьшения возврата крови к сердцу. Это может, в свою очередь, быть результатом кровопотери или недостаточного сокращения гладких мышц в стенках кровеносных сосудов. Открытие позволило уточнить методы лечения раневого шока: с помощью катетеризации сердца было установлено, что для его лечения надо использовать переливание цельной крови, а не плазмы, как думали ранее. Это помогло сохранить множество жизней.

В мирное время стали исследовать хронические заболевания сердца и легких. Дыхание и кровообращение тесно связаны. Уменьшение кровотока может привести к усилению дыхания, а патологические изменения в дыхательной системе оказывают

влияние на сердце: например, при некоторых хронических заболеваниях легких увеличивается правый желудочек. Курнан пошел еще дальше в использовании метода катетеризации сердца – причем в буквальном смысле слова. Для исследований легких он провел катетер через правое предсердие и желудочек в легочную артерию, по которой кровь из сердца поступает в легкие. В результате впервые было произведено прямое измерение давления в легочной артерии и сделано заключение о взаимосвязи между содержанием кислорода в крови и давлением крови в легочной артерии. Стало ясно, что определенные хронические заболевания легких – например, эмфизема – приводят к недостатку кислорода в организме (гипоксии) и вызывают высокое давление крови в малом круге кровообращения. При этом после экспериментального исследования нескольких возможных механизмов было выявлено, что мелкие артериолы малого круга кровообращения реагируют непосредственно на содержание кислорода в крови. При низком содержании кислорода мышцы стенок этих артерий сокращаются и давление крови увеличивается.

Сегодня катетеризация сердца позволяет проводить многие важные процедуры: ангиографию, эндомиокардиальную биопсию, внутрисосудистое УЗИ, измерение сердечного выброса, оценку миокардиального метаболизма. Также с помощью катетеризации можно изучить состояние шунтов. Разработка метода катетеризации сердца потребовала от исследователей максимальной самоотдачи, но окупилась сполна: врачи всего мира получили надежный инструмент диагностики огромного количества болезней и возможность излечить миллионы людей.

Как усмирить иммунитет при трансплантации органов

Джозеф Мюррей
Эдвард Томас

В XXI веке для человеческого организма можно подобрать большое количество «запчастей». Пожалуй, только мозг стоит особняком, и до его замены еще далеко, но вообще сегодня в мире в массовом количестве производят пересадку почти всего: сердца, почек, печени, поджелудочной железы, легких, матки, костного мозга. В некоторых европейских странах замена коленных суставов после 70 лет стала настолько рутинной процедурой, что входит в обязательную медицинскую страховую программу. На подходе бионические протезы рук, глаз и других органов. Но так было не всегда, и люди с поврежденным органом умирали, потому что все попытки пересадки здоровых органов кончались неудачей.

В начале XX века, желая спасти пациентов с заболеванием почек, врачи неоднократно проводили эксперименты по пересадке этих органов от свиней, овец и коз. Попытки, однако, были безуспешными. В 1902 году прошла операция по пересадке почки от одного человека другому, но и она оказалась неудачной. Очень скоро выяснилось, что пересадить орган или ткань человеку все же можно – но только при условии тщательного подбора донора. В 1912 году французский хирург Алексис Каррель получил Нобелевскую премию за открытия по трансплантации кровеносных сосудов и органов одного и того же человека (см. главу «Пересадка органов и кровеносных сосудов»). Этот ученый пришел к выводу, что существует некая биологическая сила, которая препятствует трансплантации органов и тканей от одного человека другому, и с пессимизмом смотрел на перспективы подобной пересадки с терапевтической целью. Через 50 лет, когда английский биолог Питер Медавара показал, что эта биологическая сила связана с системой иммунной защиты, и стал нобелевским лауреатом 1960 года, выводы Карреля подтвердились.

Прошло еще 30 лет, прежде чем были открыты механизмы, препятствующие пересадке органов, и разработаны методы, преодолевающие иммунные барьеры. Трансплантология стала обычным методом лечения болезней и состояний, которые прежде заканчивались для пациентов неминуемой мучительной смертью.

Американские трансплантологи Джозеф Мюррей и Эдвард Томас получили Нобелевскую премию 1990 года «за открытия, касающиеся трансплантации клеток и органов при лечении болезней». Об этих открытиях мы сейчас и расскажем.

Сегодня трансплантация органов – это метод хирургического лечения. Орган, изъятый у живого или умершего донора, быстро подготавливают к пересадке: удаляют иммунологически активные клетки. Затем путем хирургической операции орган помещают в тело реципиента (получателя), все крупные сосуды и нервы аккуратно соединяют. После этого следуют два важных этапа: сначала предотвращают реакцию иммунологического отторжения, а затем стимулируют орган к выполнению своей функции на новом месте.

Джозеф Мюррей был первым врачом, успешно пересадившим почку от одного человека другому. Но задолго до этого он разработал хирургическую методику трансплантации почки у собак и показал, что почка, пересаженная от одной собаки другой, может успешно функционировать. После этого он продемонстрировал, что это может быть сделано и между людьми, которые генетически не идентичны друг другу. Он стал инициатором трансплантации почек, полученных от умерших людей, и спас многих пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности. Предпосылкой для этого стала оптимальная иммуносупрессия, то есть подавление иммунного ответа организма против донорского органа. Теперь ежегодно в мире проводят около 20 000 трансплантаций почек, а выживаемость трансплантата составляет около 80 % и постоянно повышается. Сотни тысяч пациентов получили новую и более качественную жизнь.

Путь к этому результату был долгим. В 1950-е и 1960-е годы были сделаны фундаментальные открытия. Французский иммунолог Жан Доссе обнаружил трансплантационные антигены HLA (Human Leukocyte Antigens) – определенные молекулы на поверхности клеток трансплантированных органов, которые распознаются иммунной защитой реципиента как чужеродные и иммунологически активные. В результате организм пытается избавиться от трансплантата, что может привести к смерти. Эта реакция называется «трансплантат против хозяина». Необходимо было разработать средства для ее подавления, чтобы сделать возможной трансплантацию органов и клеток.

Первую успешную пересадку почки сделал в декабре 1954 года Джозеф Мюррей, а его пациентами были гомозиготные близнецы Ричард и Рональд Херрики. Незадолго до операции Мюррей попросил полицейских задокументировать отпечатки

пальцев братьев Херрик. Так журналисты, которые легально имели доступ к полицейским записям, узнали о готовящейся пересадке и буквально набросились на сенсационную тему. Ричард Херрик, страдавший почечной недостаточностью, спокойно отнесся к утечке информации и не жаловался на внимание со стороны СМИ, тем более что операция прошла отлично и новая почка нормально функционировала. После выздоровления Ричард женился на медсестре, которая ухаживала за ним в госпитале, стал отцом двоих детей и счастливо прожил в браке восемь лет. Умер он от инфаркта.

Позже Джозеф Мюррей сделал несколько других успешных пересадок органов между идентичными близнецами. Очевидная проблема спасения пациентов с неизлечимым повреждением почек была в том, что у большинства из них нет близнецов. Поэтому надо было разработать механизм, препятствовавший реакции «трансплантат против хозяина», и подыскивать подходящих доноров. Джозеф Мюррей даже использовал общее облучение тела в попытках предотвратить отторжение трансплантированных органов.

Примерно в то же время фармаколог Джордж Хитчингс и биохимик Гертруда Элайон из США обнаружили первый цитотоксический препарат, уменьшавший реакцию отторжения – азатиоприн. Благодаря этому препарату стала возможной первая успешная трансплантация почки между родственниками, которые не были идентичными близнецами, а также первая трансплантация с использованием почек умерших. Лучшие результаты были получены при выборе доноров, которые соответствовали трансплантационным антигенам пациента.

Дональду Томасу удалось уменьшить реакцию трансплантата против хозяина с помощью цитотоксического лекарственного препарата метотрексата. Вскоре он описал идеального донора: это не обязательно близнец, но, как правило, родной брат с похожим набором трансплантационных антигенов. Используя материал такого донора, можно лечить лейкемию (в быту ее еще называют раком крови), некоторые наследственные нарушения костного мозга и тяжелые расстройства крови, апластическую анемию и талассемию. Таким образом, был открыт путь для трансплантации клеток костного мозга. Более 10 000 пациентов были излечены или получили нормальную жизнь без болезненных симптомов с помощью трансплантации костного мозга, которая не требует хирургического вмешательства. Донорские клетки аспирируют (выкачивают) чаще всего из гребня подвздошной кости. Иммунный ответ реципиента инактивируют общим облучением тела или цитотоксическими препаратами.

Аспирированные клетки вводятся как при переливании крови. Стволовые клетки репопулируют (заселяют) в костный мозг реципиента и начинают продуцировать клетки крови. Иммуносупрессивное лечение проводят в течение нескольких месяцев для предотвращения или уменьшения реакции «трансплантат против хозяина». Иммунологически активные донорские клетки в конце концов становятся толерантными, после чего лечение обычно прекращается. Ежегодно в мире проводят несколько тысяч трансплантаций костного мозга. Это спасает десятки тысяч людей с лейкозом и другими тяжелыми заболеваниями.

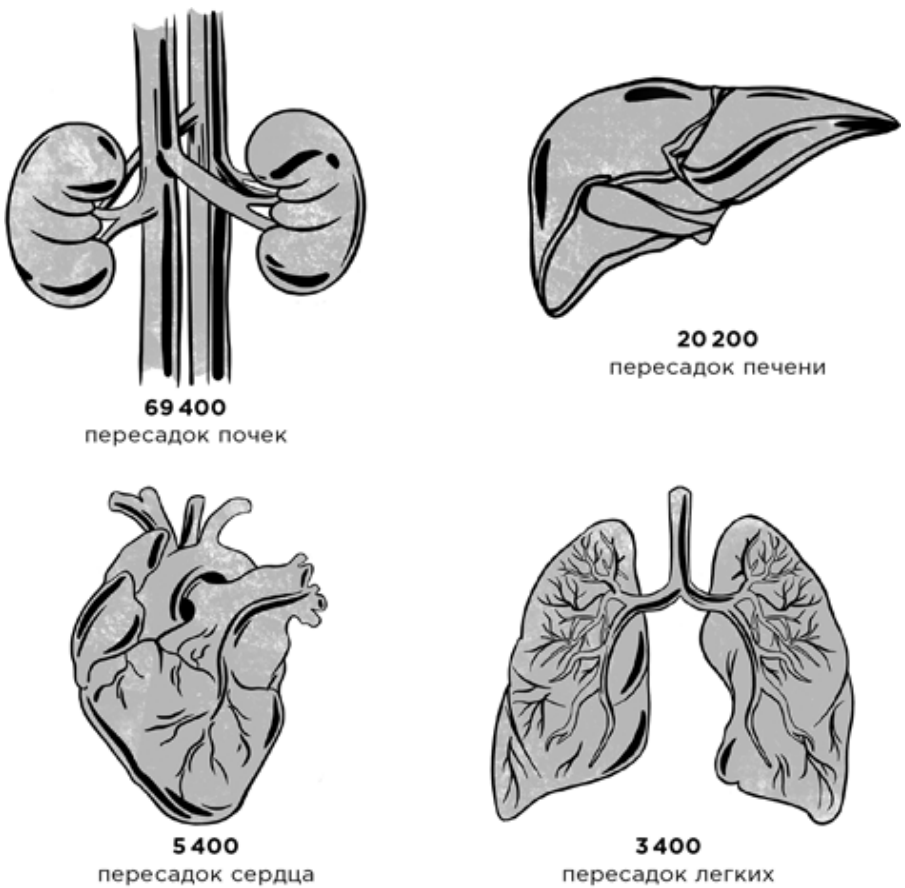


Рис. 18. В мире ежегодно осуществляется 100 800 пересадок цельных органов: почек, печени, сердца, легких и поджелудочной железы (на основе рабочих данных, которые были проанализированы за период с 2008 года и далее).

Источник: https://www.who.int/transplantation/gkt/statistics/ru/

В последнее время широкое распространение получила процедура аутологичной трансплантации костного мозга. Она заключается в том, что клетки у человека забирают, а через какое-то время обратно ему же подсаживают. Это связано с широко распространившейся терапией онкозаболеваний. Для лечения некоторых видов рака применяют чрезвычайно высокие дозы ионизирующего облучения или цитотоксические препараты, что может привести к летальному повреждению костного мозга пациента. Но при аутологичной трансплантации клетки костного мозга берут у пациента до начала интенсивного лечения. После его окончания пациент спасается реинфузией собственных клеток.

Ядерная физика на медицинской службе

Пол Лотербур
Питер Мэнсфилд

Всем известно, что человеческое тело примерно на две трети состоит из воды. Но лишь немногие знают, что именно на этом основано действие магнитно-резонансной томографии (МРТ). Дело в том, что содержание воды в конкретной ткани или органе варьирует, а в процессе многих заболеваний количество жидкости в том или ином месте меняется весьма значительно – именно такие изменения и фиксирует магнитно-резонансное изображение.

Молекула воды состоит из двух атомов водорода и одного атома кислорода. Так вот, ядра атомов водорода при определенных обстоятельствах могут превращаться в микроскопический компас. Когда материя, содержащая воду, подвергается воздействию сильного магнитного поля, ядра атомов водорода упорядочиваются, как по команде «Смирно!». Под воздействием импульсов радиоволн энергия ядер меняется, переходит на другой уровень, а после такого воздействия ядра испускают резонансные волны, возвращаясь на прежний энергетический уровень. Небольшие различия в этих волнах, испускаемых ядрами атомов водорода, легко фиксируются. После серьезной компьютерной обработки можно построить трехмерное изображение исследуемого образца. Оно будет отражать структуру ткани, в том числе содержание воды в разных ее участках. Таким образом можно получить подробную картину состояния определенных органов. А поскольку итоговый сигнал получается цифровым, легко зафиксировать результаты обследования.

О возможности исследований с помощью ядерного магнитного резонанса было известно с середины XX века, но эффективно использовать это явление в медицинских целях удалось только в 1970-х годах. Американец Пол Лотербур обнаружил, что усиление или, наоборот, ослабление магнитного поля в заранее известных направлениях позволяет создать двумерное изображение структур, визуализировать которые другими методами невозможно. Англичанин Питер Мэнсфилд использовал разницу магнитных полей в противоположных направлениях для того, чтобы более точно определить различия в резонансных волнах, испускаемых ядрами. Он показал, как обнаруженные сигналы можно быстро и эффективно

проанализировать и преобразовать в изображение. Это было важным шагом на пути к применяемому методу. Именно поэтому в 2003 году оба ученых были удостоены Нобелевской премии «за открытия, касающиеся метода магнитно-резонансной томографии».

Сразу после разработки и доработки магнитно-резонансная томография стала применяться на практике в больницах и госпиталях. Уже в начале 1980-х годов врачи стали осваивать первые серийные установки, а к началу XXI века в распоряжении медицинских работников были десятки тысяч аппаратов, совершавших миллионы обследований в год.

Большим преимуществом МРТ стало то, что она, по имеющимся на сегодня данным, совершенно безвредна. В отличие от компьютерной томографии или классического рентгеновского аппарата, МРТ не использует ионизирующее излучение, которое в определенных дозах представляет серьезную опасность для человека. Некоторые ограничения все же есть. Например, из-за того, что в аппаратах используется сильное магнитное поле, метод не применим для исследования людей с вживленным кардиостимулятором, с несъемными протезами, содержащими некоторые виды металлов, и даже с татуировками (в некоторых из них используется краска с содержанием металлов, и в сильном магнитном поле нательный рисунок может создать ожог или «поплыть»). Также использование техники требует определенной осторожности – в кабинете с аппаратом не должно быть металлических предметов, или они должны быть очень хорошо зафиксированы: ведь основа аппарата – очень мощный магнит.

Сегодня МРТ используют для изучения почти всех органов. Метод особенно ценен для детального изображения мозга – головного или спинного, а почти все нарушения этого органа приводят к изменению содержания воды в определенных участках. Иногда даже однопроцентного отклонения от нормы достаточно, чтобы обнаружить патологические изменения – а с этой задачей МРТ справляется легко.

Исследование при помощи магнитно-резонансного томографа отлично подходит для диагностики рассеянного склероза и для наблюдения за ходом этого заболевания. Рассеянный склероз характеризует местное воспаление в спинном и головном мозге, на МРТ-снимках можно увидеть, где локализуется воспаление и насколько оно интенсивно.

Предоперационная диагностика – еще одна область применения МРТ. С ее помощью можно получить трехмерные изображения и таким образом точно определить место поражения и, соответственно, масштаб будущего хирургического

вмешательства. Такая информация очень помогает врачам. В некоторых микрохирургических операциях на головном мозге хирург может работать практически вслепую, руководствуясь только данными МРТ. Детализации изображений достаточно для того, чтобы точно размещать электроды в центральных областях мозга для лечения сильной боли или двигательных расстройств при болезни Паркинсона.

МРТ-обследование очень важно в диагностике, лечении и последующем наблюдении онкологических заболеваний. Изображения могут точно выявить границы опухоли, а это способствует более точному хирургическому или лучевому лечению. Перед хирургическим вмешательством важно знать, метастазировал ли первичный очаг опухоли в соседние ткани. МРТ может отличать нормальные ткани от опухолевых гораздо точнее, чем другие методы, и тем самым увеличивает шансы операции на успех. Применяется эта возможность и для уточнения стадии заболевания.

Раньше для обследования пациентов часто применяли инвазивные методы. Их спектр широк: от инъекции до операции. В некоторых случаях такое обследование может привести к серьезным осложнениям. МРТ часто заменяет инвазивные методы и тем самым уменьшает дискомфорт или даже страдания пациентов. Яркий пример – исследование поджелудочной железы и желчных протоков с инъекцией контрастных веществ при помощи эндоскопа. Сегодня соответствующая информация может быть получена с помощью МРТ. Или давайте вспомним артроскопию, при которой оптический прибор вставляют прямо в сустав. Во время этой процедуры существует риск получить заражение крови. Но, к счастью, сегодня артроскопию можно заменить МРТ.

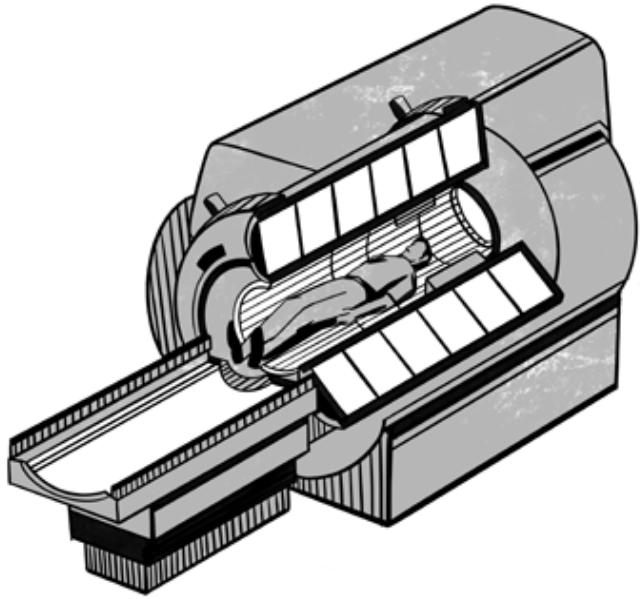


Рис. 19. Человек в аппарате для магнитно-резонансной томографии

Изобретение магнитно-резонансной томографии – один из самых показательных случаев и не слишком частых случаев, когда научное открытие было использовано исключительно для нужд больных людей. Работа десятков выдающихся физиков, химиков, программистов, биологов и, конечно, врачей позволила получить простой, безопасный и очень эффективный метод диагностики, который помог миллионам пациентов.

Кстати

Эту премию могли бы и не вручать, если бы не столетняя череда открытий, также отмеченных нобелевскими наградами. Первую премию, предшествовавшую разработкам Лотербура и Менсфилда, получили физики Хендрик Лоренц и Питер Зееман еще в 1902 году «за исследования влияния магнетизма на излучение». После этого были другие премии в областях физики и химии: например, в 1991 году Нобелевский комитет отметил швейцарца Рихарда Эрнста «за его вклад в развитие методологии ядерной магнитной резонансной спектроскопии высокого разрешения».

ЭКО: непорочное зачатие и победа над бесплодием

Роберт Эдвардс

Более 10 % всех пар во всем мире не могут зачать ребенка естественным образом. Для большинства из них это настоящая трагедия, и долгое время репродуктивная медицина не могла помочь этим людям. Но в наши дни в случаях, когда бесплодие вызвано тем, что мужская и женская половые клетки – сперматозоид и яйцеклетка – не могут встретиться естественным путем, то есть внутри тела женщины, на помощь приходит экстракорпоральное (то есть «за пределами тела») оплодотворение.

Британский ученый Роберт Эдвардс начал фундаментальное изучение биологии оплодотворения еще в 1950-х годах. Его усилия увенчались успехом 25 июля 1978 года, когда благодаря его исследованиям родился первый в мире «ребенок из пробирки». Несмотря на некоторые опасения, вскоре стало ясно, что методика ЭКО – это первая помощь бездетным парам, а «дети из пробирки» ничем не отличаются от тех, что были зачаты традиционным путем. В 2010 году Роберту Эдвардсу была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине «за разработку метода экстракорпорального оплодотворения».

Благодаря фундаментальным исследованиям Эдвардса и разработке метода их практического применения родилось новое направление в медицине. А еще родились более 4 млн детей, зачатых благодаря ЭКО.

Новая эра в репродуктивной медицине началась символично – с опытов Роберта Эдвардса над кроликами. Эксперименты показали, что яйцеклетки крольчих могут быть оплодотворены спермой в пробирках. Затем эмбрионы вводились в матку самки, и через положенное время у нее рождалось здоровое потомство. Эдвардс немного сомневался по поводу того, что подобный метод годится для оплодотворения женских яйцеклеток: ведь их жизненный цикл весьма отличается от кроличьего. А Эдвардс вместе со своими коллегами подробнейшим образом изучил, как происходит созревание женских яйцеклеток, какие гормоны регулируют этот процесс и в какой момент они готовы к оплодотворению. Он также определил наиболее благоприятные условия для мужских половых клеток. Первый крупный успех ждал ученого в 1969 году: яйцеклетка, взятая у женщины, согласившейся участвовать в эксперименте,

была оплодотворена в пробирке.

Однако на этом этапе дело застопорилось: оплодотворенная яйцеклетка делилась только один раз, после чего погибала. Эдвардс резонно предположил, что яйцеклетки должны созреть в яичниках будущей матери до определенной стадии, прежде чем их заберут для ЭКО. Поэтому он стал сотрудничать с гинекологом Патриком Степто, одним из пионеров в области лапароскопии. Технология, которую разработал Степто, позволяла осмотреть яичники с помощью оптического прибора и получить яйцеклетки. После извлечения яйцеклетки из яичника ученые помещали ее в культуру с питательной средой и добавляли туда сперматозоиды. В питательной среде оплодотворенная яйцеклетка делилась так же, как в естественных условиях, и формировала эмбрион из восьми клеток. Его и решено было подсаживать в матку пациентки для дальнейшего развития. Проанализировав уровень гормонов пациентов, Эдвардс и Степто смогли определить наилучший момент для оплодотворения и тем самым увеличить шансы на успех.

В 1977 году супруги Лесли и Джон Браун пришли к ним в клинику после девяти лет неудачных попыток завести ребенка: у Лесли была непроходимость фаллопиевых труб. Супругам была проведена ЭКО-терапия. Когда оплодотворенная яйцеклетка развилась в эмбрион из восьми клеток, его подсадили в матку миссис Браун. Через девять месяцев с помощью кесарева сечения на свет появился здоровый ребенок Луиза Браун. День ее рождения, 25 июля 1978 года, стал началом нового этапа в медицине. Окрыленные успехом Эдвардс и Степто основали в Кембридже первый в мире Центр ЭКО-терапии. Степто был его директором со дня основания и до самой своей смерти в 1988 году, а Эдвардс – бессменным научным руководителем вплоть до выхода на пенсию. В Центре искусственного оплодотворения шло постоянное развитие и усовершенствование методов ЭКО, а гинекологи и клеточные биологи со всего мира проходили здесь стажировку. К 1986 году благодаря ЭКО-терапии, проведенной в этом Центре, родилось 1000 детей – то есть, около половины всех детей, рожденных после ЭКО в то время во всем мире. В том же 1986 году первый ребенок из пробирки появился и в России.

Сегодня ЭКО – признанный метод лечения бесплодия во всем мире. С момента своего открытия он получил несколько важных усовершенствований. Например, стало возможно оплодотворять яйцеклетку конкретным сперматозоидом с помощью микроинъекции. Этот метод используют, когда диагностируют мужские факторы бесплодия: недостаток сперматозоидов или их недостаточную подвижность. Другое усовершенствование метода

ЭКО заключается в том, что созревшие яйцеклетки, пригодные для ЭКО, определяют теперь уже не с помощью лапароскопии, как раньше, а неинвазивным методом – ультразвуком. Забирают, а точнее аспирируют их с помощью иглы.

ЭКО стало безопасной и эффективной терапией. Последующие долгосрочные исследования показали, что здоровье рожденных в результате ЭКО детей ничем не отличается от здоровья их «обычных» ровесников. Однако по-прежнему далеко не каждая процедура ЭКО заканчивается родами. Дети рождаются примерно в 20–30 % случаев. Осложнения при ЭКО крайне редки и связаны с преждевременными родами при многоплодной беременности или со значительным возрастом первородящей женщины. Чтобы уменьшить риск, женщине, как правило, подсаживают не больше двух эмбрионов и ограничивают ее возраст для процедуры ЭКО. Еще одно ограничение, действующее в том числе в России, – нельзя выбирать пол ребенка. Исключение составляют случаи, когда возникает вероятность, что ребенок родится с генетическим заболеванием, зависящим от пола, например с гемофилией.

В 2010 году, когда благодаря ЭКО в мире насчитывалось уже примерно 4 млн новых людей, Луиза Браун и несколько других таких же «особенных» детей уже сами стали родителями. И это, вероятно, лучшее доказательство безопасности и успешности ЭКО-терапии. Сегодня открытие Роберта Эдвардса каждый день делает счастливыми многих людей во всем мире.

ГЛАВА 5. Развитие фармакологии: от сыворотки крови до «Виагры»

Сыворотка крови против дифтерии

Эмиль фон Беринг

Над этой главой мы работали с особым чувством. Во-первых, она посвящена самой первой Нобелевской премии по физиологии и медицине и получена за спасение детей от тяжелой инфекционной болезни, которая в свое время ежегодно уносила тысячи жизней. Во-вторых, она присуждена за исследование лечебных свойств сыворотки крови, а один из авторов этой книги защитил кандидатскую диссертацию по специальности, связанной именно с гематологией. Итак, в 1901 году Эмиль фон Беринг получил Нобелевскую премию «за работу по сывороточной терапии, главным образом за ее применение против дифтерии, что открыло новые пути в медицинской науке и дало врачам победоносное оружие против болезни и смерти».

Еще работая военным врачом и хирургом, Беринг стал заниматься научными исследованиями: изучал в боевых условиях использование дезинфицирующих средств для лечения инфекционных заболеваний. До демобилизации в 1889 году он успел поработать в Академии военной медицины в Берлине и накопил там солидный опыт в области антисептики. Во время Первой мировой войны его противостолбнячная вакцина спасла жизни многим немецким солдатам, за это ученый получил от правительства Германии Железный крест.

Революционные открытия фон Беринга начались с исследования бактерий, которые вызывают дифтерию и столбняк. Эти заболевания развиваются из-за токсинов, которые выделяют микроорганизмы. Надо сказать, что еще до фон Беринга его земляк, бактериолог Фридрих Лёффлер сумел открыть палочку *Corynebacterium diphtheriae* – бактерию, вызывающую дифтерию. Однако дальше этого Лёффлер пойти не смог, так что в XIX веке каждый второй ребенок, заболевший дифтерией, умирал, и медицина была не в силах противостоять болезни.

В 1889 году Эмиль фон Беринг присоединился к исследовательской группе пионера бактериологических исследований Роберта Коха и занялся изучением методов лечения дифтерии и столбняка. Однако не все в отношениях двух выдающихся ученых и будущих нобелевских лауреатов было безоблачно. Однажды между Берингом и Кохом произошел диспут, быстро перешедший в ссору. Беринг утверждал, что мясо больных туберкулезом животных опасно, потому что бактерии, вызывающе эту болезнь, у животных и у человека одни и те же.

Кох, открывший возбудителя туберкулеза, палочку Коха, обиделся на то, что коллега бесцеремонно вторгается в область чужой компетенции, и стал отрицать, в общем-то, очевидные вещи. Позже выяснилось, что делал он это напрасно, и фон Беринг был прав.

В 1890 году фон Беринг продолжил развивать идеи Эмиля Ру и Ильи Мечникова, с которыми его связывала крепкая дружба. Работая вместе с Китасато Сибасабуро, фон Беринг обнаружил, что когда подопытным животным вводили малые дозы ослабленной формы бактерий столбняка или дифтерии, в ответ в сыворотке их крови появлялись химические вещества, которые обезвреживали токсины. Ученый назвал эти химические агенты «антитоксинами». Совместно с Эрихом Вернике фон Беринг начал исследовать реакцию животных, зараженных вирулентными штаммами дифтерии, на сыворотку, содержавшую антитоксины. Оказалось, что введение такой иммунной сыворотки полностью вылечивало морских свинок от всех симптомов заболевания. Данные, полученные во время экспериментов на животных, полностью подтвердились и у людей. Выяснилось, что в крови переболевших дифтерией или столбняком образуются антитоксины. Они обеспечивают иммунитет к этим болезням – причем как у самого переболевшего, так и у тех, кому такая кровь перелита. В том же году на основе открытий фон Беринга был разработан метод лечения сывороткой крови.

В 1891 году в Берлине страдавшим от дифтерии детям впервые были сделаны уколы новой сыворотки Беринга, и многие из обреченных больных были спасены. После того как методика в принципе была разработана, оставалось только наладить производство высококачественного «антитоксина» в промышленных масштабах. Эту задачу фон Берингу помог решить еще один будущий нобелевский лауреат, Пауль Эрлих (о его нобелевском открытии совместно с Ильей Мечниковым см. главе «Открытие иммунитета»). Благодаря своим открытиям в иммунологии, Эрлих сумел усовершенствовать противодифтерийную сыворотку Беринга, рассчитать правильную дозировку антитоксина и получить высококонцентрированные, очищенные и надежные в клиническом применении сыворотки. В 1894 году усовершенствованная сыворотка была успешно опробована уже на 220 больных детях. После этого сывороточная терапия встала «на поток», спасая ежегодно от смерти тысячи инфицированных детей.

Открытие фон Берингом антител в крови привело к совершенно новому типу терапевтической стратегии, в которой иммунитет создается с помощью искусственных средств,

иммунизации, и может вылечить заболевания, угрожающие жизни. Фон Беринга заслуженно считают основателем метода сывороточной терапии (серотерапии) и человеком, который стоял у истоков иммунотерапии и вакцинопрофилактики. Позднее антитоксины стали называться антителами, а ученые стали искать новые способы приобретения иммунитета к патогенным организмам.

В жизни фон Беринга было много пересечений со знаменитыми людьми – причем не только в профессиональной, но и в личной жизни. В 1897 году он провел на Капри медовый месяц с Эльзой Спинола, дочерью директора берлинской больницы Шарите – в ней ученый проходил стажировку в 1880 году. На Капри Эмиль купил виллу, которую назвал «Спинола» (сейчас она носит имя «Беринг»). На этой самой вилле в 1909–1911 годах жил писатель Максим Горький. Вакцинопрофилактика, основу которой заложил фон Беринг, помогла справиться с болезнями, являвшимися много веков подряд основной причиной смертности, особенно детской. Натуральная оспа, от которой ежегодно погибало 5 млн человек, была полностью ликвидирована в 1978 году. В 2002 году Европа была провозглашена ВОЗ свободной от полиомиелита. Еще немного – и эта болезнь будет побеждена на всей Земле. Однако успех иммунопрофилактики лишил некоторых людей, мягко говоря, осторожности (а если говорить прямо – здравого смысла). В прошлом веке родители постоянно сталкивались с ситуациями, когда в семьях их друзей, родственников, да и в их собственных дети умирали от инфекционных заболеваний. Современных пап и мам не преследует этот ужас, поэтому некоторые из них поддаются на неаргументированные и голословные доводы «антипрививочников» и отказываются от вакцинации. Это приводит к вспышкам болезней, которые медицина вроде бы победила. Так, согласно предварительным глобальным данным, в первые три месяца 2019 года число зарегистрированных случаев заболевания корью увеличилось на 300 % по сравнению с аналогичным периодом 2018 года[3].

Инсулин: жить с диабетом долго и счастливо

Фредерик Бантинг
Джон Маклеод

За историю человечества лекарств, кардинально изменивших жизнь людей, изобретено не так уж много, но они имеют огромное значение. Назовем их. Это ацетилсалициловая кислота или аспирин, памятник которому поставлен в Германии, антибиотики, прекратившие масштабные инфекционные эпидемии (см. главу «Пенициллин: спасительная плесень»), и инсулин. Для начала расскажем вам одну историю.

Начало 20-х годов XX века. Десятилетняя Женева Штикельбергер из американского города Оберон в штате Северная Дакота заболела: стала много пить, часто ходила «по-маленькому», быстро теряла вес. Врачи и раньше наблюдали эту болезнь у других людей, но лечить ее не умели. Состояние Женевы ухудшалось, а ее мать не могла смириться с тем, что теряет дочь, и упорно искала ученых, которые могли бы спасти Женеву. В это же время по миру стало распространяться известие об удивительном лекарстве, открытом канадским врачом Фредериком Бантингом и ассистировавшим ему студентом-медиком Чарльзом Бестом. К канадским ученым начали приходить тысячи писем с просьбами спасти детей с похожим заболеванием.

Летом 1922 года о чудо-лекарстве стало известно и маме Женевы. Она позвонила Бантингу, и тот сразу же вызвал больную к себе на прием. В поезде девочке стало плохо, она впала в кому. Машинист вызвал карету скорой помощи к приходу поезда. Бантингу также сообщили о смертельно опасном ухудшении состояния Женевы. Молодой ученый встретил пациентку на вокзале и там же сделал ей инъекцию препарата. Обреченная девочка пришла в сознание, постепенно ее самочувствие стало улучшаться. Женева прожила долгую активную жизнь и скончалась в возрасте 72 лет. С момента первой инъекции она в течение 61 года постоянно получала лечение чудесным препаратом.

Вы наверняка догадались, что Женева была больна сахарным диабетом, и лишь благодаря открытию инсулина получила шанс на компенсацию своей болезни и полноценную жизнь. Физиологическая суть этой болезни сложна: для того чтобы

клетки организма могли усваивать сахар из крови, осуществляя таким образом питание, им нужен гормон инсулин, который вырабатывается особыми клетками поджелудочной железы. При сахарном диабете инсулин вырабатываться перестает или же вырабатывается недостаточно. В результате при изобилии пищи клетки голодают, а сахар выводится из организма вместе с мочой.

Раньше, до того как научились определять сахар в моче с помощью анализов, диагноз «сахарный диабет» у мужчин помогали поставить мухи. Они вились в низу брюк, на которые случайно попадали сладкие капли мочи, когда мужчина ходил в туалет.

«Сахарная болезнь» была известна с древних времен, еще с III тысячелетия до нашей эры. Этот диагноз был для пациента смертным приговором вплоть до конца XIX века, когда были начаты исследования поджелудочной железы и сделан первый шаг к пониманию причин сахарного диабета. Еще до этого возникла наука о железах внутренней секреции, названная эндокринологией. В 1869 году немецкий анатом и гистолог Пауль Лангерганс, на тот момент 22-летний студент, обнаружил в поджелудочной железе специфические группы клеток, которые впоследствии назовут в его честь «островками Лангерганса». Спустя несколько лет именно из этих островков будет выделен гормон инсулин. Но этому величайшему событию предшествовал целый ряд научных исследований.

В 1889 году немецкие клиницисты и физиологи Оскар Минковский и Йозеф фон Меринг продемонстрировали в экспериментах на животных, что удаление поджелудочной железы приводит к развитию сахарного диабета. Но при введении этим же животным экстракта из поджелудочной железы симптомы диабета исчезают. Так было установлено, что поджелудочная железа каким-то образом контролирует уровень сахара в крови, но как именно это происходит – еще предстояло выяснить.

В 1900 году русский патологоанатом Леонид Васильевич Соболев изучил строение и функцию островков Лангерганса, экспериментально доказав, что именно эти участки поджелудочной железы осуществляют специфическую внутреннюю секрецию, регулируя уровень сахара в крови.

В начале XX века ученые и врачи настолько близко подошли к открытию инсулина, что это произошло почти одновременно в нескольких странах. Приблизительно за полгода до того, как стало известно об открытии инсулина в Канаде, этот гормон в лабораторных условиях выделил румынский профессор физиологии Никола Паулеско. Но из-за языковых трудностей в

условиях послевоенной Европы мир узнал об открытии Паулеско позже, чем об открытии канадских ученых. Поэтому первооткрывателями инсулина считаются Бантинг и Бест.

Итак, летом 1921 года двое молодых канадских ученых – хирург Фредерик Бантинг и его помощник Чарльз Бест – в лаборатории профессора Джона Маклеода из университета Торонто выделили из экстракта поджелудочной железы собаки, а затем теленка вещество, которому дают название «айлетин». Именно айлетин, который Маклеод впоследствии предложил переименовать в «инсулин» (от латинского *insula* – островок), стал долгожданным и чудодейственным лекарством для лечения сахарного диабета, и страдавшие им люди получили право на жизнь.

Первым больным, получившим инъекцию инсулина, стал четырнадцатилетний пациент клиники в Торонто Леонард Томпсон. К сожалению, препарат был недостаточно очищен: началась тяжелая аллергическая реакция, и, несмотря на снижение концентрации сахара в крови Леонарда, инъекции прекратили. Через 12 дней, в течение которых биохимик Колин упорно работал над улучшением экстракта, инсулин вновь ввели тому же пациенту. Это случилось 23 января 1922 года. На этот раз успех был ошеломительным, болезнь перестала прогрессировать, не было побочных эффектов, а умирающий мальчик пошел на поправку.

Следующим пациентом стал близкий друг Бантинга, врач Джо Джиль-Криста. Его излечение окончательно подтвердило, что наконец-то получено средство для спасения сотен тысяч жизней! За это открытие Фредерик Бантинг и профессор Маклеод уже в 1923 году получили Нобелевскую премию «за открытие инсулина». Бантинг, признавая заслугу своего помощника Чарльза Беста, отдал ему половину своей премии, и теперь в истории медицины их имена стоят рядом.

В том же 1923 году Бантинг познакомился с полковником Элаем Лилли, основателем фармацевтической компании Lilly. Компания сразу же взялась за разработку технологии массового производства инсулина, и это позволило спасти жизнь многих пациентов с диабетом. Налаживание производства происходило на удивление быстро: уже весной 1923 года было введено в эксплуатацию оборудование для массового выпуска препарата.

15 октября 1923 года был выпущен инсулин животного происхождения Илетин. К концу 1923 года компания Lilly выпустила почти 60 млн единиц препарата – и началась эра инсулина в лечении сахарного диабета. Это фатальное заболевание перестало быть смертным приговором. Принимая

инсулин и контролируя уровень сахара в крови, люди с диагнозом «сахарный диабет» могут вести образ жизни практически здорового человека.

В 1948 году американский врач-эндокринолог Эллиот Проктор Джослин учредил медаль, которую стали вручать тем, кто 25 лет прожил с диагнозом «сахарный диабет». Однако в 1970 году выдача медали прекратилась: ведь благодаря инсулину долгожительство с сахарным диабетом стало массовым явлением. Вместо нее была учреждена новая медаль, которую стали вручать диабетикам, прожившим с этой болезнью более 50 лет. На ее лицевой стороне изображен человек с факелом и надпись: «Триумф человека и медицины» (Triumph for Man and Medicine), на оборотной – «За 50 мужественных лет с диабетом» (For 50 Courageous Years with Diabetes).

Рис. 20. Медаль за долгую жизнь с диабетом

Химическая структура инсулина человека была установлена в 1960 году. С помощью метода генной инженерии в 1976 году впервые был осуществлен полный синтез человеческого инсулина. В настоящее время пациенты с диабетом получают лечение только человеческим инсулином и его синтетическими аналогами. Инсулины животного происхождения больше не используются.

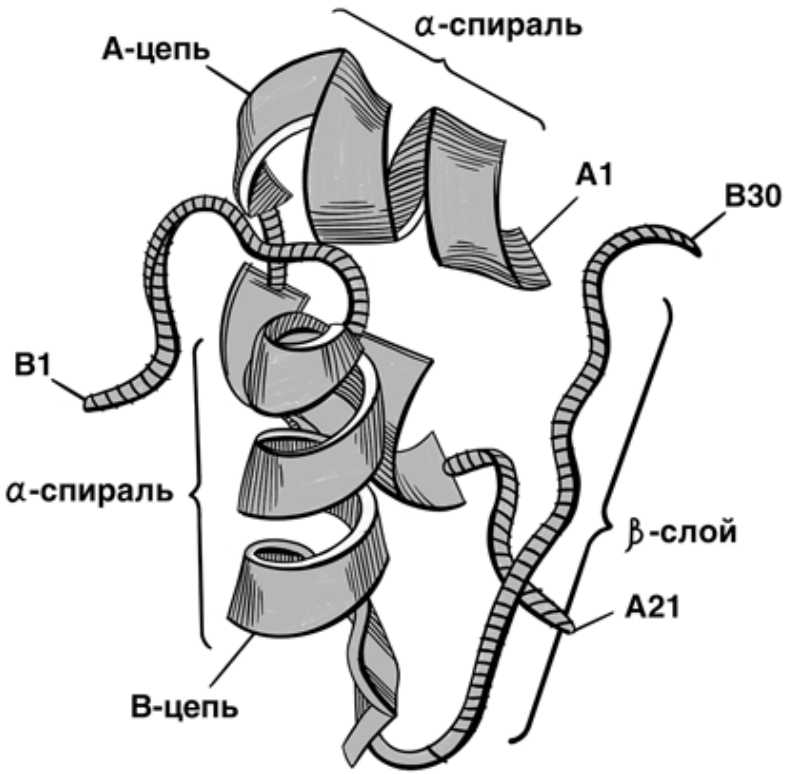


Рис. 21. Формула инсулина

Химическая формула инсулина дает ответ на вопрос о том, почему до сих пор инсулин можно принимать только в виде инъекций. Дело в том, что инсулин – белок. Он переваривается в желудочно-кишечном тракте, не попадая в кровь, где должен работать. Инсулин всегда необходим при диабете I типа, когда в результате аутоиммунной атаки секретирующие клетки погибают. Также его применяют во многих случаях диабета II типа, когда инсулина недостаточно. С появлением шприцев-ручек и тест-полосок, определяющих количество сахара в крови, качество жизни пациентов с диабетом возросло многократно,

однако они по-прежнему должны считать хлебные единицы, определять уровень сахара, совершать расчеты и делать себе инъекции инсулина. Наука подошла вплотную к тому, чтобы автоматизировать этот процесс. Уже сейчас существует устройство типа пластыря с микроиглой: он приклеивается на плечо, производит все эти процедуры автоматически и имитирует работу островков Лангерганса в поджелудочной железе.

Диета против анемии

Джордж Уиппл
Джордж Майнот
Уильям Мерфи

Сегодня анемия не считается серьезным заболеванием, от которого можно умереть. Если такой диагноз установлен по результатам анализа крови, доктор порекомендует есть определенные продукты или пропишет препараты, которые есть в любой аптеке, – и проблема будет решена. Но еще в XX веке от злокачественной анемии ежегодно умирали тысячи людей, а чем она вызвана и как ее лечить – никто не знал.

Ситуация изменилась только после открытия, совершенного тремя американскими исследователями: профессором Джорджем Майнотом из Гарвардского университета, доктором наук Уильямом Мерфи из того же института в Бостоне и профессором Джорджем Уипплом из Нью-Йорка. С медицинской точки зрения под анемией понимают нарушения в составе крови, определяемые с помощью анализов. В первую очередь это уменьшение количества эритроцитов (красных кровяных телец) в единице объема крови и уменьшение концентрации гемоглобина – красного пигмента, которым определяется цвет крови. Американские исследователи нашли маркер в анализе крови, с помощью которого смогли следить за ее состоянием. Кроме того, они нашли простое средство лечения пернициозной анемии, а именно – введение в рацион больных блюд из печени. Нобелевская премия Майноту, Мерфи и Уипплу была вручена в 1934 году «за открытия, связанные с применением печени в лечении пернициозной анемии». Но обо всем – по порядку.

Еще в 1920 году Уиппл стал изучать анемию, связанную с потерей крови, и влияние пищи на ее регенерацию. Во время экспериментов с собаками Уиппл забирал у них определенный объем крови. Небольшая кровопотеря компенсируется сравнительно быстро благодаря притоку в кровяное русло воды из тканей. Но следствием этого разбавления станет уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина на единицу объема – в точности как при анемии. Уменьшая объем циркулирующей крови у собак, ученый доводил содержание гемоглобина до 1/3 от нормы. Наблюдая затем за анализом крови, Уиппл мог количественно оценить подъем уровня гемоглобина. В то время люди уже выяснили, что на регенерацию крови благотворно

влияет обильное разнообразное питание, однако не было известно, что количество пищи и ее калорийность здесь играют небольшую роль, а разные продукты вносят в процесс восстановления крови разный вклад.

Уиппл не давал подопытным собакам одну и ту же пищу. Он кормил их то печенью, то почками, то мясом, затем растительными продуктами, например абрикосами. В результате экспериментов он обнаружил, что в зависимости от рациона скорость восстановления крови была разной. Например, печень и абрикосы эффективнее других продуктов стимулировали костный мозг, в котором производятся эритроциты.

Работы Уиппла с обескровливанием собак впечатлили Майнота и Мерфи. Они решили проверить, можно ли положительные результаты этих экспериментов перенести на анемию другого типа – злокачественную анемию человека, если использовать те же продукты, которыми Уиппл лечил анемию от потери крови.

Злокачественная, или пернициозная, анемия в то время представляла собой грозную болезнь, которая почти всегда, за редким исключением, заканчивалась смертью. В лучшем случае больной умирал через несколько лет, но чаще – через несколько месяцев. Причина болезни была неизвестна. Человек вдруг начинал резко стареть, его кожные покровы бледнели, он чувствовал постоянную усталость, жаловался на одышку, головокружение, бессонницу, терял аппетит и нередко впадал в депрессию. Язык у него часто был как бы покрыт ярким малиновым лаком. Когда больной обращался к врачу, тот обнаруживал, что количество эритроцитов в крови пациента снижено в несколько раз. Скажем, если норма – около 5 млн эритроцитов в одном мм^3, то у больных пернициозной анемией их может быть на порядок меньше: например, 0,6 млн. Количество гемоглобина в эритроците также снижается, но не в такой высокой степени, как количество красных кровяных телец. Исследовав кровь под микроскопом, врач обнаруживал, что эритроциты пациентов с анемией отличаются от нормальных. В норме эритроциты одинаковы по размеру и имеют выпукло-вогнутую форму: они похожи на диск, вдавленный посередине. При пернициозной анемии эритроциты были самых разных размеров, от огромных до маленьких, а их форма различалась. Это указывало на их дефектность или незрелость, то есть ветвь костного мозга, которая отвечала за производство эритроцитов, работала неправильно. При пернициозной анемии нарушается нормальный процесс созревания эритроцитов в костном мозге. В результате изменяются их обычные форма и размеры. Течение

заболевания обычно циклическое, периоды особо тяжелой анемии чередуются с периодами, когда состав крови становится более или менее нормальным.

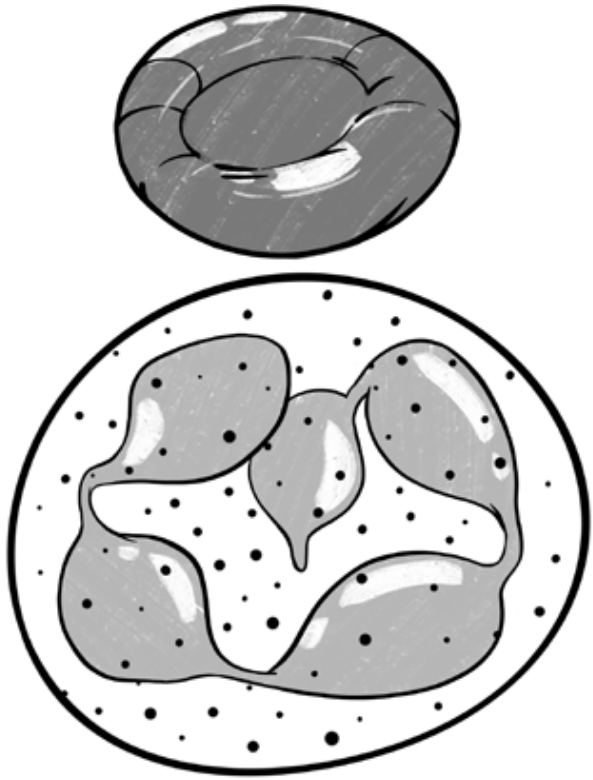


Рис. 22. Нормальный эритроцит и больной пернициозной анемией

Общепринятые способы лечения до 1920-х годов предполагали большие дозы мышьяка. В сложных случаях прибегали к спленэктомии (удалению селезенки) или переливанию крови. Такая жесткая терапия объяснялась тем, что медики считали: заболевание связано с действием ядовитых веществ. Никто до Майнота и Мерфи не додумался лечить пациентов со злокачественной анемией с помощью диеты: ее рассматривали не как важную составляющую часть терапии, а, скорее, как часть ухода за больными.

Исследователи разработали для больных, госпитализированных с диагнозом «пернициозная анемия», ежедневный рацион питания с включением блюд из печени. Решение ученых было основано на результатах наблюдений Джорджа Уиппла: они подтверждали, что у собак с анемией,

которых кормили печенью, образование эритроцитов проходило очень быстро. Метод Майнота и Мерфи вызвала скептицизм у врачей. Они отказывались признать, что анемия может быть вызвана просто нарушением состава потребляемой пищи. Нормальному лечению также мешал отказ некоторых больных употреблять большое количество печени.

Тем не менее было успешно проведено лечение 45 больных, которые за очень короткий срок избавились от депрессии и других симптомов анемии и вновь ощутили себя здоровыми. Еще более показательным было уменьшение у них нарушений двигательного аппарата, которые прежде выражались в скованности, старческой походке и неуверенной мелкой моторике.

Гарвардский врач Уильям Касл, заметил, что удаление желудка при раке часто приводит к смерти от пернициозной анемии. Его исследования подтвердили, что слизистая оболочка здорового желудка вырабатывает определенное вещество, так называемый внутренний фактор, который взаимодействует с внешним фактором, то есть пищей. Внутренний фактор необходим для всасывания в кишечнике витамина B12, который, в свою очередь, стимулирует образование эритроцитов в костном мозге. У больных пернициозной анемией этот «внутренний фактор» отсутствует.

Вскоре началось промышленное производство вещества, заменяющего отсутствующий «внутренний фактор». Его назвали вентрикулином. А печеночный фактор, выделенный в 1948 году, назвали витамином B12, или цианокобаламином, так как содержал высокое количество кобальта. В настоящее время витамин B12 назначают больным пернициозной анемией в виде внутримышечных инъекций.

До 1926 года ежегодно в мире умирало 6000 больных пернициозной анемией. Лечение диетой с высоким содержанием печени было очень эффективным, однако имело свои недостатки. Не каждый мог ежедневно съедать по 230 г печени. Введение размельченной печени через зонд прямо в желудок больного также доставляло страдания пациентам и неудобство врачам. Решение было найдено, когда химики научились получать экстракт печени, который оказался в 50–100 раз активнее, чем натуральный продукт. Его можно было принимать в малых количествах или вводить внутримышечно. Позднее было установлено, что причина злокачественной анемии кроется в нехватке витамина B12 у больных, а печень или ее экстракты помогают в лечении, потому что в них содержится этот витамин в усваиваемой форме. Стало понятным, что лечение диетой с

большим содержанием печени в ранних экспериментах Мерфи, Майнота и Уиппла, оказалось эффективным из-за достаточного содержания в печени витамина B12, который мог всасываться в кровь без «внутреннего фактора».

Диагнозы «B12-дефицитная анемия», «мегалобластная анемия», «болезнь Аддисона – Бирмера», «злокачественное малокровие», «злокачественная анемия» – это синонимы пернициозной анемии, за лечение которой Уиппл, Мерфи и Майнот получили Нобелевскую премию. Таким образом, болезнь, имевшая столько названий, была полностью побеждена, а ее лечение оказалось простым и доступным.

Первый антибактериальный препарат

Герхард Домагк

Химиотерапией сегодня чаще всего называют медикаментозное лечение онкологических заболеваний. Однако раньше ее применяли для лечения инфекционных заболеваний: в широком смысле термин «химиотерапия» подразумевает любое уничтожение патогенов или злокачественных образований с помощью лекарств. До начала XX века особых успехов химиотерапевтические методы не имели, но в начале столетия ученым удалось прийти к нескольким значимым результатам.

Так, были найдены относительно эффективные препараты против лихорадки и сифилиса, а также некоторых экзотических болезней, характерных для тропических широт, например против малярии. Основная проблема заключалась в том, что найденные препараты в большинстве своем были крайне токсичны не только для патогенных бактерий, но и для самого человека. Грань между эффективной и смертельной дозами зачастую была очень зыбкой. Кроме того, в начале XX столетия против целого ряда «популярных» видов болезнетворных микроорганизмов еще не было найдено лекарств с доказанным действием.

В 1910–20-х годах в медицине популярностью пользовались различные металлы или их соли: ртуть, мышьяк, сурьма, висмут и даже золото. Именно с изучения антибактериального действия солей этого драгоценного металла начинал исследовательскую карьеру немец Герхард Домагк. В дополнение к основным экспериментам он решил провести и исследование терапевтического эффекта популярных в то время красителей.

В ходе экспериментов Домагк вместе с коллегами испытал 4-сульфонамид-2,4'-диаминоазобензолгидрохлорид. Этому препарату впоследствии дали название «пронтозил». Первые испытания проводились в декабре 1932 года. Сначала для мышей была определена смертельная доза штамма стрептококков, которые были выделены у пациента, страдавшего от заражения крови. Группе животных ввели десятикратную смертельную дозу этого бактериального штамма, а через полтора часа после инфицирования примерно половине из них дали определенное количество пронтозила.

Рис. 23. Пронтозил

24 декабря 1932 года было обнаружено, что в эксперименте, начатом 20 декабря, контрольная группа мышей умерла, кроме тех, кому был введен пронтозил: эти грызуны были живы и здоровы. Эксперимент послужил основанием для открытия, которое сделало огромный вклад в развитие химиотерапии.

Несмотря на то что результаты этих и последующих экспериментов сразу вызвали у исследователей большой интерес, они не публиковались вплоть до февраля 1935 года. Зато после публикации пронтозил с его чудесным действием стал известен во всем мире. Обширные эксперименты проводились во Франции, США, Великобритании и, конечно, на родине препарата – в Германии. Одним из главных результатов этих исследований было открытие того, что терапевтическое действие пронтозила связано с его сульфонамидным компонентом. Было установлено, что при попадании в организм препарат разваливается и активной становится именно эта часть.

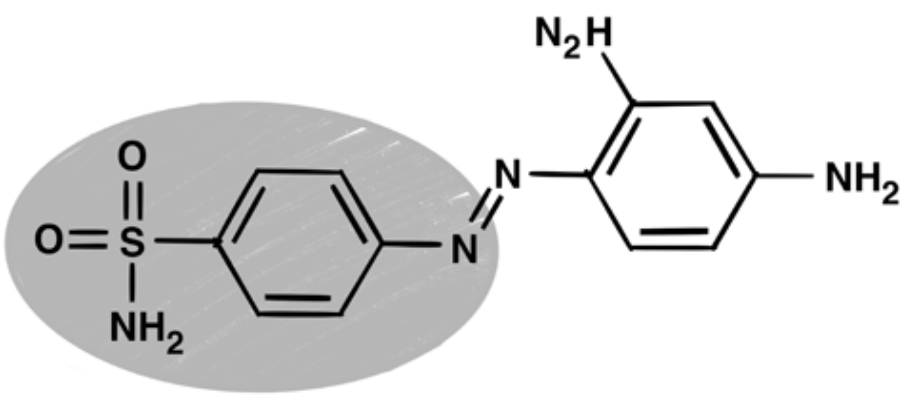


Рис. 24. Формула пронтозила с выделенной активной частью

Изначально пронтозил считался препаратом, действовавшим главным образом против стрептококковых инфекций. Однако даже в своей первой публикации Домагк сообщил, что это вещество, хотя и в меньшей степени, имеет терапевтическую активность при стафилококковых инфекциях и некоторых видах пневмоний.

Пронтозил, зарекомендовавший себя эффективным борцом с различными кокковыми инфекциями, также успешно применялся против палочковидных бактерий. Он стал эталонным для своего времени средством против инфекций мочеполовых путей. Но и это еще не все. Открытие Герхарда Домагка предоставило невероятные возможности для лечения самых разных заболеваний. Эксперименты с новыми комбинациями препаратов сульфонамида проводились повсеместно, ученые надеялись найти новые методы лечения других заболеваний. И эти попытки быстро увенчались успехом! В 1938 году британская химическая фирма сообщила, что синтезировала пиридин и сульфонамид, это соединение оказалось эффективным против пневмонии.

В то время как в производство запускались новые препараты сульфонамидов, ученые из разных стран исследовали способ действия этих препаратов и их побочные эффекты. Сам Домагк подробно изучал этот вопрос. Исследования в этой области проводились также во Франции, Великобритании, Америке, Швеции и других странах.

Профессор Герхард Домагк был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине в 1939 году «за открытие антибактериальных эффектов пронтозила». Пронтозил называют именно антибактериальным препаратом, а не антибиотиком, хотя он оказывает аналогичное действие. Просто антибиотиками традиционно называют только препараты естественного происхождения. В год присвоения премии немец Домагк не мог принять награду по ряду понятных политических причин, однако в 1947 году он получил золотую медаль и диплом. К этому времени в арсенале врачей появилось еще более совершенное оружие против инфекций – пенициллин. Но эту историю мы расскажем уже в следующей главе.

Пенициллин: спасительная плесень

Александр Флеминг
Хоуард Флори
Эрнст Чейн

Антибиотики – мощное оружие против инфекционных болезней, они занимают особое место в медицине. Самый первый из них был назван его первооткрывателем, Александром Флемингом, «пенициллином». Именно он положил начало золотому веку медицины.

Почти все великие достижения медицины со второй половины XX века и до сего дня стали возможными именно благодаря применению антибиотиков. Например, стали излечимыми ранее смертельные менингит, эндокардит, родильная горячка. Медики научились предотвращать или лечить хронические костные инфекции, абсцессы, скарлатину, туберкулез, венерические болезни – сифилис и гонорею. Хирургия стала безопаснее, появилась возможность проводить сложные операции: удаление опухолей мозга, лечение врожденных дефектов – например, волчьей пасти. Стали возможны высокотехнологичные процедуры: операции на открытом сердце, трансплантации органов. Появилась возможность лечить лейкемию и многие виды рака с использованием химиотерапии.

В истории открытия пенициллина прослеживается закономерность прогресса биологической науки. Многие великие ученые так и не рассказали историй своих открытий. Но Александр Флеминг не делал из этого тайны и честно признался, что основную роль в его открытии сыграли удача, случайное наблюдение и то, что он не был членом команды, которая работала бы на результат в рамках какой-то конкретной научно-исследовательской задачи.

В молодости Флеминг увлекался химиотерапией и антисептиками. В 1922 году, работая в иммунологической лаборатории, он случайно обнаружил лизоцим – фермент, присутствующий в наших нормальных клетках, например в слезах, и обладающий большой бактериолитической силой. Историю про слизь из носа исследователя, случайно упавшую в контейнер с культурой, изучают еще в школе. Именно лизоцим проложил путь к Нобелевской премии, которую Александр Флеминг, Эрнст Чейн и Хоуард Флори получили в 1945 году за

открытие пенициллина и его терапевтического действия при многих инфекционных заболеваниях (“for the discovery of penicillin and its curative effect in various infectious diseases”).

В XIX веке несколько великолепных ученых и врачей, среди которых были французский химик Луи Пастер, венгерский акушер Игнац Земмельвейс и немецкий микробиолог Роберт Кох, вывели науку на путь понимания того, что процессы гниения и многие болезни вызваны микроорганизмами. После этого многие современники Флеминга бросились искать способы уничтожения бактерий. Классические эксперименты выглядели так. В чашку Петри делали посев бактерий. Желеобразная среда, на которой их выращивали, – а это чаще всего был агар-агар и подогретая кровь, – так нравилась бактериям, что они не только поедали ее, но и бурно в ней размножались. Агломерации из миллионов бактерий, слишком маленьких, чтобы видеть их поодиночке невооруженным глазом, формируют колонию, которую уже можно легко увидеть. Флеминг выращивал огромные, хорошо заметные колонии золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) и других бактерий. Затем он пытался убить их ферментами, выделенными из лейкоцитов (клеток крови) и слюны. Тогда еще никто не мог подумать, что в природе найдутся живые организмы, способные уничтожать себе подобных патогенов.

В августе 1928 года Флеминг уехал в отпуск. Вернувшись в начале сентября, он обнаружил на столе несколько забытых чашек Петри с посевами стафилококка. Убирая их, ученый заметил в одной из чашек полоску сине-зеленого пушка. Это была обычная хлебная плесень, грибок пеницилл *(Penicillium)*, а странным было то, что вокруг грибка отсутствовала пленка из стафилококка – будто что-то мешало ему расти в этом месте.

Флеминг сразу понял, что произошло: грибок, питавшийся агар-агаром, выработал какое-то вещество – оно проникло в питательную среду и убило стафилококк. Это вещество – первый обнаруженный настоящий антибиотик, препятствующий формированию клеточной стенки, которую также мог разрушать лизоцим – фермент, обнаруженный Флемингом несколькими годами ранее. За следующие несколько месяцев ученому удалось вырастить в жидкой питательной среде плесень, профильтровать ее и выделить жидкость, проявившую наибольшую антибактериальную активность. Флеминг назвал ее пенициллином – по имени производившего грибка. Но поскольку его выработка оказалась небольшой, нестабильной и медленнодействующей, то Флеминг, попробовав ее в лечении нескольких больных, сделал вывод, что его открытие не имеет особого практического значения. Но, к счастью для всего

человечества, другие ученые уже подхватили эстафету Александра Флеминга.

Вторая мировая война выдвинула свои срочные требования: для спасения жизней были нужны эффективные антибактериальные средства. Десятки тысяч солдат могли погибнуть от боевых ран, осложнений от пневмонии, инфекций брюшной полости, мочевых путей и кожи. Поэтому в 1940 году команда с факультета патологии Оксфордского университета, возглавляемая Хоуардом Флори и Эрнстом Чейном, начала искать способы выделения и концентрации пенициллина для его производства в промышленных объемах. Надо было срочно найти штаммы, которые производили бы пенициллин в достаточных количествах. Искали в коллекциях научно-исследовательских лабораторий, привлекали простых людей: просили их присылать образцы почвы, заплесневелых зерен, фруктов и овощей. Дело затянулось, шел уже 1943 год… В конце концов какая-то домохозяйка принесла дыню – и это изменило ход медицинской истории. Мир узнал о лекарстве, способном лечить инфекции, вызванные смертоносными бактериями. Все существующие ныне штаммы – потомки той плесени 1943 года.

Оксид азота – лучший друг мужчин

Роберт Ферчготт
Луис Игнарро
Ферид Мурад

Когда в 1986 году Роберт Ферчготт, Луис Игнарро и Ферид Мурад независимо друг от друга обнаружили, что короткоживущий газ оксид азота NO эндогенно продуцируется в организме и действует как сигнальная молекула между клетками, – это было сенсацией. Эти результаты открыли новую главу в биомедицинских исследованиях и предвещали фантастические научные достижения.

Еще в 1980 году Роберт Ферчготт доказал, что внутренний клеточный слой кровеносных сосудов, эндотелий, обладает не только механическими защитными свойствами, как считалось до сих пор. Ферчготт продемонстрировал, что от присутствия эндотелия зависит сокращение и расслабление кровеносных сосудов. В результате блестящего, так называемого сэндвич-эксперимента он сделал ключевое открытие, которое заложило основу для будущих научных разработок. В сэндвич-исследовании рассматривались разные части аорты. В одной эндотелиальный слой не был поврежден, а в другой он был удален. Сначала Ферчготт убедился, что часть без эндотелия сокращается при стимуляции, и подготовил аорту с целым эндотелием таким образом, чтобы не были возможны ни ее сокращение, ни расслабление. Затем исследователь сложил обе части аорты как сэндвич и обнаружил, что теперь ни одна из частей не сокращалась при такой же стимуляции, как в подготовительном опыте. Отсюда Ферчготт сделал вывод, что в эндотелии продуцируется некое неизвестное вещество, «фактор эндотелиальной релаксации», которое и расслабило часть аорты без эндотелия, не дав ей ответить сокращением на стимуляцию. Это открытие положило начало научной охоте на неизвестное вещество из эндотелия. Поиск длился шесть лет, выдвигались различные гипотезы. Одина из них заключалась в том, что в процессе расслабления аорты участвовали нитросоединения.

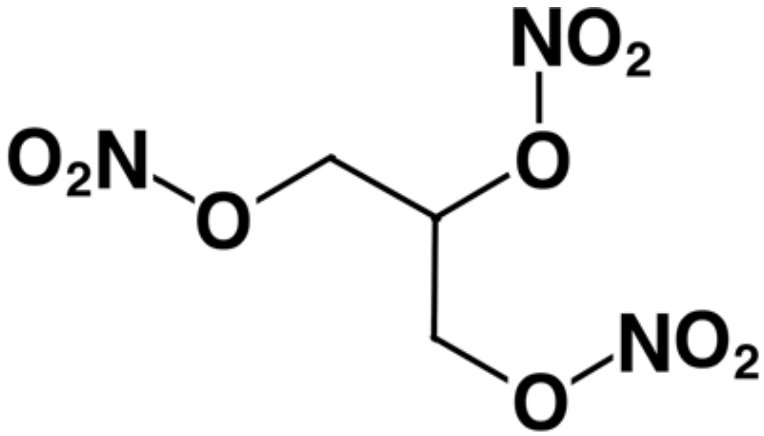


Рис. 25. Формула нитроглицерина

Почву для исследований в этом направлении подготовил Ферид Мурад. Он знал, что нитроглицерин активирует в аортальных мышечных клетках фермент гуанилилциклазу, которая способствует выработке циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), что в свою очередь вызывает релаксацию мышц. Мурад выдвинул предположение, что нитроглицерин действует именно из-за того, что выделяет оксид азота NO. Ученый проверил свою гипотезу, просто пропустив газ NO через тканевый препарат, содержавший гуанилилциклазу. Действительно, производство цГМФ увеличилось! Был обнаружен новый способ воздействия на ферменты для активации их функций. Так Мурад выявил принцип работы нитроглицерина, остававшийся неизвестным более ста лет, – а ведь все это время нитроглицерином успешно лечили стенокардию! Эксперименты Ферида Мурада, выполненные за несколько лет до открытия Ферчготтом эндотелиального фактора, и проторили для исследователей «тропинку» в нужном направлении для поиска загадочного вещества из эндотелия.

Именно по этой «тропинке» и шел третий лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине 1998 года Луис Игнарро, получивший ее вместе со своими коллегами «за открытие свойств оксида азота как сигнальной молекулы в сердечно-сосудистой системе». Вдохновленный выводами Мурада, он лично убедился, что именно NO расслабляет кровеносные сосуды. Одновременно с Робертом Ферчготтом, но независимо от него Луис Игнарро исследовал также работу эндотелиального фактора, «охота» на который уже подходила к логическому завершению. Она увенчалась успехом во время научной конференции в Рочестере, штат Миннесота, США летом 1986

года. На этой встрече Ферчготт рассказал, основываясь на нескольких работах, что этим фактором был оксид азота NO. На том же заседании Луис Игнарро поддержал это заявление. Игнарро пошел еще дальше: при помощи спектрального анализа он установил, что спектры излучения при взаимодействии гемоглобина с эндотелиальным фактором и с NO идентичны. Таким образом, он сделал вывод, что открытое Ферчготтом вещество и есть оксид азота. Охота закончилась. Загадка, связанная с эндотелиальным фактором, была окончательно отгадана и помогла решить много прикладных задач.

Сегодня мы знаем, что NO играет в организме важные сигнальные и регуляторные роли. Образующийся в нервных клетках оксид азота быстро распространяется во всех направлениях, активируя все клетки в непосредственной близости. Это помогает быстро включать и выключать многие функции, от поведенческих реакций до желудочно-кишечной подвижности. За счет того, что оксид азота может отключать сокращение артериальных мышечных клеток, артерии под его воздействием расширяются. Так NO влияет на давление крови, регулирует ее приток к различным органам, а заодно предотвращает образование тромбов. Белые кровяные клетки, например макрофаги, вырабатывая NO в больших количествах, становятся при этом токсичными для бактерий и паразитов.

Так что дает оксид азота мужчинам?

Все очень просто. Благодаря действию оксида азота расслабляются мышцы и расширяются сосуды пещеристого тела полового члена, наполняющегося от этого кровью. Именно с помощью оксида азота и работают самые эффективные препараты для людей с нарушениями эрекции. В том числе и самое известное из них – «Виагра» с действующим веществом силденафилом.

ГЛАВА 6. Нобелевские открытия XXI века

РНК-интерференция – «контролер» генетической информации

Жак Моно
Франсуа Жакоб

Генетический код, хранящийся в ДНК, содержит все необходимые сведения о структуре белков. Инструкции, содержащиеся в ДНК, копируются в мРНК и затем используются для синтеза белков. Этот поток генетической информации от ДНК через мРНК к белку британский ученый и лауреат нобелевской премии Фрэнсис Крик назвал центральной догмой молекулярной биологии. Ведь белки участвуют во всех жизненных процессах: как ферменты они переваривают пищу, как рецепторы – принимают сигналы мозга, как антитела – защищают нас от бактерий.

Наш геном состоит примерно из 30 000 генов, но в каждой клетке используется только часть из них. Какие гены будут участвовать в синтезе новых белков (то есть экспрессироваться) контролирует молекулярная машина, которая снимает с ДНК мРНК-копию в процессе, называемом транскрипцией. Это, в свою очередь, может зависеть от различных факторов. Основополагающие принципы регулирования экспрессии генов более 50 лет назад открыли лауреаты Нобелевской премии французы Жак Моно и Франсуа Жакоб. Эти принципы одинаковы для всех живых организмов – от бактерий до людей.

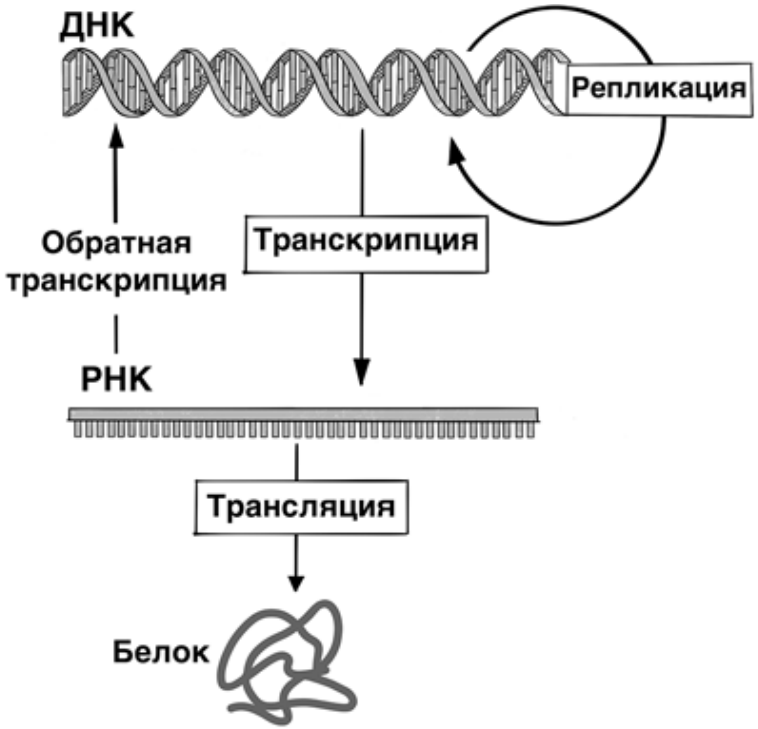


Рис. 26. Схема центральной догмы молекулярной биологии

В начале 1990-х годов проводившие эксперименты молекулярные биологи получили ряд неожиданных результатов, которые никто не мог объяснить. Самые поразительные эффекты наблюдали ученые, занимавшиеся биологией растений. Они пытались сделать цвет лепестков петунии более интенсивным и для этого вводили в ДНК растения ген, вызывающий образование красного пигмента в цветах. Однако цвет петуний не стал интенсивнее, он просто пропал, лепестки стали белыми! Механизм, вызвавший этот эффект, оставался загадочным до тех пор, пока молекулярные генетики из США Эндрю Файер и Крейг Мелло не совершили «открытие РНК-интерференции – гашения активности генов с помощью двухцепочечной РНК», за которое получили в 2006 году Нобелевскую премию.

Файер и Мелло изучали, как экспрессия генов регулируется у червей. Сначала ученые вводили им мРНК, кодирующую мышечный белок, и наблюдали поведение червей. Оно не отличалось от обычного.

Затем Файер и Мелло сделали другой группе червей инъекцию, содержащую мРНК с последовательностью нуклеотидов, комплементарной первой, так называемую антисмысловую мРНК. Ее можно сравнить с зеркальным

отражением первой мРНК – смысловой.

Инъекция антисмысловой РНК также не повлияла на поведение червей. Но после того, как Файер и Мелло ввели смысловую и антисмысловую РНК одновременно, они заметили, что черви стали совершать странные резкие движения. Такое поведение ученые до того наблюдали у червей, полностью лишенных гена, который кодирует мышечный белок. Что же произошло?

Смысловые и антисмысловые молекулы РНК встретились. Они связались друг с другом (так как были комплементарны) и образовали двухцепочечную РНК. Может ли быть так, что молекула двухцепочечной РНК подавила активность гена, содержавшего тот же код, что и эта самая РНК? Файер и Мелло подтвердили эту гипотезу, введя молекулы двухцепочечной РНК, кодирующие нескольких других белков червя. В каждом эксперименте инъекция двухцепочечной РНК приводила к замалчиванию гена, содержавшего именно соответствующий введенной РНК код в одноцепочечной РНК. Белок, кодируемый этим геном, больше не синтезировался.

Такое замалчивание гена с помощью молекулы РНК и называется РНК-интерференцией, а РНК называется интерферирующей.

После серии экспериментов Файер и Мелло пришли к двум выводам. Первый: двухцепочечная РНК может заглушать гены, код которых соответствует коду молекулы введенной РНК. Второй: интерферирующие РНК могут передаваться от клетки к клетке и даже наследоваться. При этом для значительного подавления гена требовалось крошечное количество соответствующей ему интерферирующей РНК.

Файер и Мелло опубликовали результаты своего исследования в журнале *Nature* в 1998 году. Их открытие прояснило многие запутанные и противоречивые экспериментальные наблюдения и объяснило естественный механизм контроля над потоком генетической информации. Так в генетике появилась новая область исследований.

В последующие годы были установлены все компоненты механизма РНК-интерференции. Двухцепочечная РНК связывается с белковым комплексом Dicer (от англ. *dice* – нарезать), расщепляющим ее на фрагменты. Другой белковый комплекс, RISC (RNA-induced silencing complex – РНК-индуцируемый замалчивающий комплекс), связывает эти фрагменты. Одна из нитей РНК удаляется, но другая остается связанной с комплексом RISC и служит в качестве зонда для обнаружения молекул матричной РНК (мРНК). Когда молекула мРНК комплементарно

связывается с фрагментом РНК на белковом комплексе RISC, он распознает ее и расщепляет, после чего мРНК деградирует, то есть распадается на малые фрагменты. Белок, кодируемый этой мРНК, не экспрессируется – ген замалчивается!

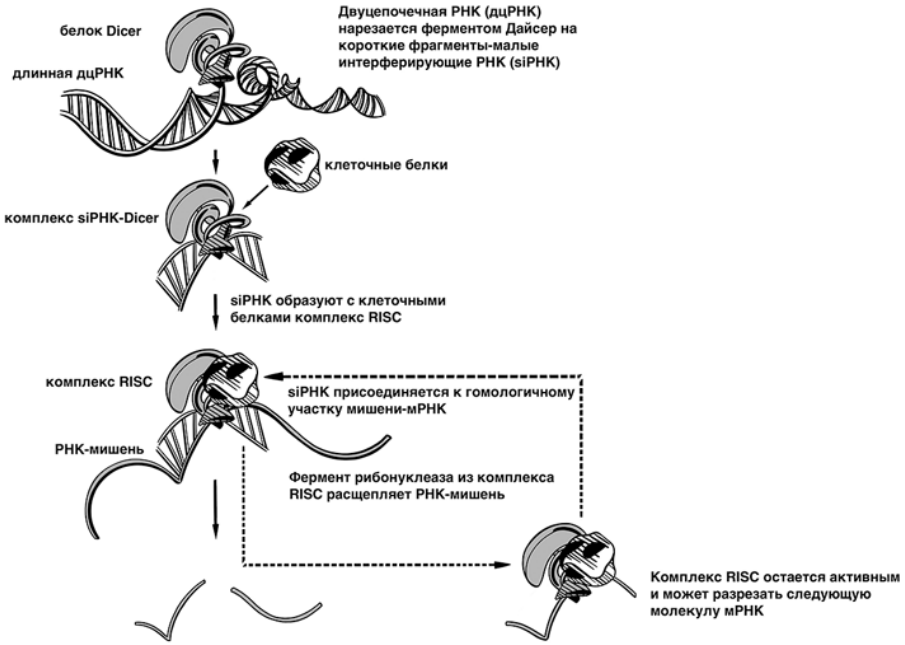

белок Dicer
длинная дцРНК
Двуцепочечная РНК (дцРНК) нарезается ферментом Дайсер на короткие фрагменты-малые интерферирующие РНК (siРНК)
клеточные белки
комплекс siРНК-Dicer
siРНК образуют с клеточными белками комплекс RISC
комплекс RISC
РНК-мишень
siРНК присоединяется к гомологичному участку мишени-мРНК
Фермент рибонуклеаза из комплекса RISC расщепляет РНК-мишень
Комплекс RISC остается активным и может разрезать следующую молекулу мРНК

Рис. 27. Схема механизма РНК-интерференции

Оказалось, что РНК-интерференция заглушает гены не просто так! Это делается для защиты клетки от вирусов, особенно у низших организмов. Генетический код многих вирусов записан именно на двухцепочечную РНК. Когда такой вирус заражает клетку, он вводит в нее свою молекулу РНК, которая немедленно связывается с Dicer. Комплекс RISC активируется, вирусная РНК деградирует, и клетка выживает. В дополнение к этому способу защиты высокоразвитые организмы (такие, как человек) разработали эффективную иммунную защиту, включающую антитела, клетки-киллеры и интерфероны.

Но самое удивительно, что иногда РНК-интерференция защищает организм не только от вирусов, но и от самого себя! Точнее, от его же собственных генов. Так называемые транспозоны представляют собой последовательности ДНК, которые могут перемещаться в геноме. И если они попадут в неправильное место, то могут нанести организму серьезный ущерб. Многие транспозоны работают путем копирования собственной ДНК в РНК, которая затем обратно транскрибируется

в ДНК и встраивается на новое место в геноме. Часть этой молекулы РНК, как правило, бывает двухцепочечной и при необходимости может быть узнана механизмом РНК-интерференции. Таким образом, интерферирующие РНК защищают геном от транспозонов, то есть от части его самого.

Сотни генов в нашем геноме кодируют небольшие молекулы РНК, называемые микроРНК. Они содержат фрагменты кода других генов. Такая микроРНК может образовывать двухцепочечную структуру и активировать механизмы интерференции РНК для блокирования синтеза соответствующего белка. Теперь мы понимаем, что генетическая регуляция микроРНК играет важную роль в развитии организма, для здоровья которого крайне важно, чтобы в нужное время синтезировались нужные белки.

РНК-интерференция открывает огромные возможности для использования в генной инженерии. Были разработаны специальные двухцепочечные молекулы РНК для искусственного подавления определенных генов у людей, животных или растений. Такие молекулы РНК вводятся в клетку и так же, как в природе, активируют механизм РНК-интерференции для разрушения мРНК с идентичным кодом.

Этот метод уже стал важным инструментом исследователей в биологии и биомедицине. В будущем ожидается, что он будет использоваться во многих областях, включая клиническую медицину и сельское хозяйство. Например, во время опытов с животными было показано, что гены, вызывающие высокий уровень холестерина в крови, можно искусственно подавить, если ввести интерферирующую РНК. В настоящее время ученые разрабатывают планы по лечению с помощью РНК-интерференции вирусных инфекций, сердечно-сосудистых заболеваний, рака, эндокринных расстройств и так далее.

Теломера, преодолевшая предел Хейфлика

Элизабет Блэкберн
Джек Шостак
Кэрол Грейдер

В 2009-м Нобелевскую премию по физиологии и медицине присудили трем ученым, которые экспериментальным путем смогли решить фундаментальную задачу биологии. Вот ее суть: как предотвратить укорочение хромосом при каждом последующем делении клеток, как копировать клетки неизмененными и таким образом продлевать жизнь организма и отодвигать старение. Американские цитогенетики Элизабет Блэкберн, Джек Шостак, а также биолог Кэрол Грейдер продемонстрировали ее решение: оно находится в концевых участках хромосом – теломерах. Ученые выделили фермент теломеразу, который препятствует укорочению хромосом.

Когда один из авторов этой книги еще училась на биологическом факультете МГУ, студентов только начинали знакомить с гипотезой советского ученого Алексея Оловникова. Гипотеза касалась участия теломер в механизме, обуславливающем конечное число делений клетки. Тогда было известно, что концевые участки хромосом представляют собой несколько сотен или тысяч одинаковых триплетов – а это и есть теломеры. Триплет – это последовательность из трех оснований, кодирующая одну аминокислоту, из которой в дальнейшем строятся белки. А теломеры не кодируют никаких белков, зачем они тогда – тем более в таком количестве? И почему это количество сокращается с каждым делением клетки?

Советский ученый Алексей Матвеевич Оловников в 1971 году предположил, что укорочение теломер – это и есть механизм, обуславливающий конечное число делений клетки (так называемый предел Хейфлика). В 1992 году было обнаружено, что дети с прогерией, умирающие от «старости» к 13 годам, просто уже рождаются с короткими теломерами. Так была обнаружена прямая связь между длиной теломер и старением.

Несмотря на очевидную корреляцию между длиной теломер и «возрастом» клеток, вопрос о причинно-следственной связи оставался открытым до 1999 года. Тогда в лаборатории удалось показать, что удлинение теломер останавливает старение – и клеток, и человеческих тканей. Осталось решить, как удлинить теломеры и остановить старение клетки, а вместе с ней и всего

организма. В 2009 году Джеку Шостаку, Кэрол Грейдер и Элизабет Блэкберн вручили Нобелевскую премию по медицине и физиологии «за открытие того, как теломеры и фермент теломераза защищают хромосомы». Алексей Оловников в число нобелевских лауреатов не вошел, хотя именно его блестящая гипотеза легла в основу исследования, и это было признано биологическим и медицинским сообществом почти единогласно. Например, об этом говорит профессор Майкл Фоссел своей книге «Теломераза. Как сохранить молодость, укрепить здоровье и увеличить продолжительность жизни».

Вся наследственная информация, наш геном, хранится в хромосомах в молекулах ДНК. Уже в 1930 году Герман Мёллер (Нобелевская премия 1946 года) и Барбара Мак-Клинток (Нобелевская премия 1983 года) сделали такое предположение: структуры на концах хромосом, теломеры, могут играть защитную роль. Но как именно они работают – оставалось загадкой.

Разгадка забрезжила, когда ученые начали понимать, как именно происходит копирование генов. Когда клетка готовится к митозу, молекулы ДНК должны удвоиться, им помогает в этом фермент ДНК-полимераза, которая «садится» на одну из копируемых нитей на самом ее конце. Оловников рассказывал, что эта идея пришла ему в голову в метро, где он наблюдал за ремонтом путей. Рабочая вагонетка доходила до конца рельса и останавливалась, в результате рельс под ней оказывался не замененным. Такой же процесс происходит на самом конце ДНК, на котором «крепится» фермент. Он оказывается нескопированным, и при каждом последующем делении хромосома сокращается на эту величину недорепликации. Это происходит во многих клетках, но не во всех. Почему же бывают исключения?

Хромосому защищает концевой участок с повторяющимися основаниями ТТАГГГ, теломера. Эта последовательность, в отличие от триплетов, не кодирует белков. В каждой хромосоме таких одинаковых последовательностей несколько десятков. Так что, хоть при каждом делении участков теломер становится на одну меньше, клетка может совершать определенное число делений, почти не замечая такого убывания. Однако, когда теломер не остается, клетка перестает делиться, стареет и совершает апоптоз – самоуничтожение. Большинство нормальных клеток не делятся часто, поэтому их хромосомы не подвергаются риску сокращения. Многие ученые полагают, что укорочение теломер может быть причиной старения – как отдельных клеток, так и организма в целом. В отличие от нормальных клеток,

злокачественно перерожденные, раковые клетки обладают способностью к неограниченному делению – и все же сохраняют свои теломеры. Было высказано предположение, что существует особый механизм или фермент, восстанавливающий длину теломер, в результате которого клетки способны практически к неограниченному делению.

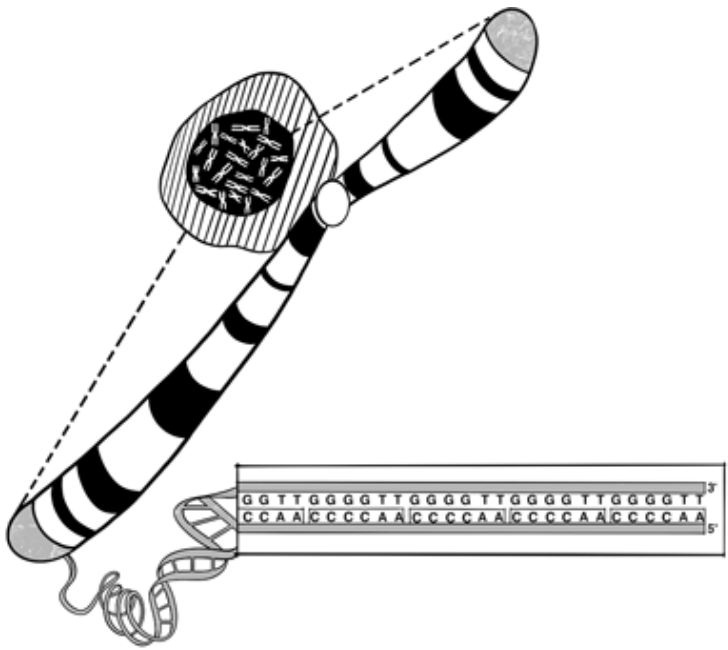


Рис. 28. Хромосома. Отдельно показан концевой участок нити ДНК с повторяющимися последовательностями триплетов ТТАГГГ

Под Рождество 1984 года будущий нобелевский лауреат Кэрол Грейдер обнаружила признаки ферментативной активности в клеточном экстракте, который она исследовала. Так был открыт фермент теломераза. Его функция состоит в том, чтобы достраивать теломеру ДНК и обеспечивать таким образом платформу, которая позволяет ДНК-полимеразе скопировать всю длину хромосомы, не пропуская ее самую концевую часть. Исследователи изучили этот фермент: он оказался обратной транскриптазой; с ней связана особая молекула РНК, которая используется в качестве матрицы для обратной транскрипции во время удлинения теломер. Злокачественные клетки избегают клеточного старения и способны к неограниченной пролиферации (делению), так как в них увеличена активность теломеразы.

Со злокачественными опухолями организму бороться тяжело,

потому что наша иммунная система не распознает их как чужеродные, и их деление выходит из-под контроля. Медицина достигла больших успехов в лечении онкологических заболеваний. Например, когда один из авторов этой книги защищал кандидатскую диссертацию на базе Гематологического научного центра, длительной ремиссии (другими словами, практически полного выздоровления) достигали только 20 % детей с лимфолейкозами. Теперь с этим видом лейкоза научились бороться, и выздоравливают уже 80 % детей. Однако не все виды опухолей поддаются терапии, и общего подхода к лечению онкобольных до сих пор не найдено. Поскольку в большинстве видов опухолей неограниченное деление клеток достигается за счет повышенной активности в них теломеразы, именно она могла бы быть мишенью для препаратов против рака. А значит, нужен препарат, который сможет отключить теломеразу в раковых клетках. Тогда процесс сокращения теломер возобновится, хромосомы в ходе интенсивного деления истощатся – и раковые клетки погибнут.

В настоящее время проводятся клинические исследования с целью оценки соединений, направленных против клеток с повышенной активностью теломеразы. Это одно из направлений практического использования открытия теломеразы. Другое связано с изучением привычек и образа жизни, способствующих удлинению теломер. Новейшие данные позволяют считать, что умеренные физические нагрузки увеличивают длину теломер, затормаживая старение. Для взрослого человека это 150–300 минут в неделю аэробной активности и 1–2 раза в неделю работы с легкими весами. Такие цифры приведены в исследовании 2018 года.

Исследования теломеразы продолжаются, ведь они связаны с ключевыми проблемами: старением и борьбой с раком.

Индуцированные стволовые клетки: чудесные метаморфозы

Джон Гёрдон
Синъя Яманака

Каждый человек когда-то был оплодотворенной яйцеклеткой. В первые дни после зачатия эмбрион состоит из незрелых клеток, и каждая из них способна развиться в любую из тканей, образующих взрослый организм. Это плюрипотентные стволовые клетки. При дальнейшем развитии эмбриона они дают начало новым клеткам – нервным, мышечным, костным и так далее. Каждая из них специализируется на выполнении конкретной задачи во взрослом организме. Ранее считалось, что путь от плюрипотентной клетки до клетки с узкой специализацией возможен только в одну сторону. Исследователи полагали, что во время созревания клетка изменяется таким образом, что возвращение к незрелой, плюрипотентной стадии невозможно. Но британский биолог Джон Гёрдон опроверг эту догму. Он утверждал, что геном специализированной клетки может по-прежнему содержать всю информацию, необходимую для любого «выбора» пути развития. В 1962 году он проверил свою гипотезу, заменив ядро яйцеклетки лягушки ядром из зрелой специализированной клетки, полученной из кишечника головастика. В результате яйцеклетка превратилось в полноценного клонированного головастика, а следующие эксперименты позволили получить взрослую лягушку. Получалось, что ядро зрелой клетки не утрачивало способность стимулировать развитие полноценного организма и хранило в себе «дорожную карту» для любого типа клеток.

Сначала открытие Гёрдона было встречено со скептицизмом, но несколько ученых повторили его эксперименты, и сомнений в правоте британского биолога не осталось. После этого Джон Гёрдон инициировал интенсивные исследования, доработал технологию эксперимента и в результате сумел клонировать не только земноводных, но и млекопитающих, первым и самым известным из которых стала овечка Долли, родившаяся в 1996 году. Теперь Гёрдона называют «крестным отцом клонирования». Его эксперимент заключался в отборе клеточных ядер с последующим их введением в другие клетки. Но, пожалуй, главным наследием его открытий стало понимание того, что ядро зрелой специализированной клетки может быть возвращено в

незрелое, плюрипотентное состояние. Эта интересная и амбициозная задача и встала теперь перед учеными.

Японец Синъя Яманака смог справиться с ней только через 40 с лишним лет после открытия Гёрдона. Исследования японского ученого касались эмбриональных стволовых клеток, то есть плюрипотентных стволовых клеток, выделенных из эмбриона и культивированных в лаборатории. Первоначально такие стволовые клетки выделил у мышей Мартин Эванс, за что и получил Нобелевскую премию в 2007 году. Яманака попытался определить гены, благодаря работе которых эти клетки оставались в плюрипотентном состоянии. Идентифицировав несколько из них, он решил проверить, можно ли с их помощью перепрограммировать зрелые клетки так, чтобы они вновь стали плюрипотентными.

Яманака и его сотрудники помещали разные комбинации генов-кандидатов в зрелые клетки соединительной ткани (фибробласты) и наблюдали за результатами под микроскопом. Наконец ученые нашли комбинацию, которая сработала. Рецепт оказался на удивление прост: всего четыре гена обладают способностью перепрограммировать клетки соединительной ткани в незрелые стволовые клетки!

Полученные индуцированные плюрипотентные стволовые клетки могли развиться в нервные клетки и клетки кишечника. Открытие того, что неповрежденные зрелые клетки могут быть перепрограммированы в плюрипотентные стволовые клетки, было опубликовано в 2006 году и воспринято как серьезный прорыв в науке.

Открытия Гёрдона и Яманаки показали, что в определенных условиях специализированные клетки могут повернуть вспять весь свой жизненный путь. Серьезные изменения, которые происходят в процессе их развития, не являются необратимыми. Ученые, открывшие новый взгляд на жизненный цикл клетки, в 2012 году получили Нобелевскую премию по физиологии и медицине «за открытие того, что зрелые клетки могут быть перепрограммированы в плюрипотентные».

Исследования последних лет показали, что из индуцированных плюрипотентных клеток можно получить огромное количество различных типов функциональных клеток. Открытия Гёрдона и Яманаки предоставили новые инструменты для ученых во всем мире и привели к заметному прогрессу во многих областях медицины.

Например, клетки кожи, взятые у пациентов с различными заболеваниями, можно перепрограммировать и исследовать в лаборатории, чтобы определить, чем они отличаются от клеток

здоровых людей. Такие клетки представляют собой очень ценные инструменты для понимания механизмов болезней и дают новые возможности для развития методов лечения.

Кстати

В разное время Джон Гёрдон работал во многих авторитетных вузах: например, в Оксфордском и Кембриджском университетах, в Калифорнийском технологическом институте. Кроме того, он занимал ключевые позиции еще в одной организации, названной в честь известного специалиста, чьи работы были связаны с получением плюрипотентных клеток – в институте Джона Гёрдона. Именно такое имя с 2004 года носит институт онкологических исследований и биологии развития в Кембридже.

Сверим наши биологические часы

Майкл Росбаш
Джеффри Холл
Майкл Янг

В 2017 году Нобелевская премия в области физиологии и медицины была присуждена за открытие «body clock» – генетических часов, отвечающих за циркадные (то есть суточные, от латинских слов *circa*, «вокруг» и *dies* – «день») ритмы нашего тела. Премию с формулировкой «за открытие молекулярных механизмов, контролирующих циркадные ритмы» получили американцы Майкл Росбаш из Медицинского института Говарда Хьюза, Джеффри Холл из Университета Мэна и Майкл Янг из Университета Рокфеллера.

Вся жизнь на Земле приспособлена к вращению нашей планеты. Издавна известно, что живые организмы – растения и животные, включая людей, – имеют внутренние биологические часы, помогающие предвидеть восход и закат солнца и адаптироваться к ритму дня. Часы регулируют все основные функции организма, такие как поведение, уровень гормонов, сон, температура тела и метаболизм. Вот почему десинхронизация между нашей внешней средой и внутренними биологическими часами – например, когда мы на самолете пересекаем несколько часовых поясов, – приносит нам дискомфорт. Но как эти часы работают? Джеффри Холл, Майкл Росбаш и Майкл Янг смогли узнать об их механизме на генном уровне. Их открытия объясняют, каким образом организмы растений, животных и людей настраивают свой циркадный ритм, то есть адаптируют свой биологический ритм так, чтобы он синхронизировался с вращением земли.

Еще в XVIII веке астроном Жан-Жак де Меран записал свои наблюдения за мимозой, которая поднимает листья навстречу солнцу в дневное время и опускает в сумерках. Ученого заинтересовало, что произойдет, если растение будет помещено в постоянную темноту. Оказалось, что независимо от солнечного света листья продолжают следовать своему суточному циклу. Это однозначно свидетельствовало о том, что у растений есть биологические часы.

Будущие нобелевские лауреаты стали использовать в качестве модельного организма не растения, а животных – плодовую мушку дрозофилу. Именно она помогла выделить ген,

контролирующий нормальный ежедневный биологический ритм. Опыты показали, что этот ген кодирует белок, который накапливается в клетке в течение ночи, а затем расходуется днем. Впоследствии они определили дополнительные белковые компоненты этого самоподдерживающегося механизма. Теперь признано, что биологические часы функционируют по тем же принципам в клетках других многоклеточных организмов, включая человека.

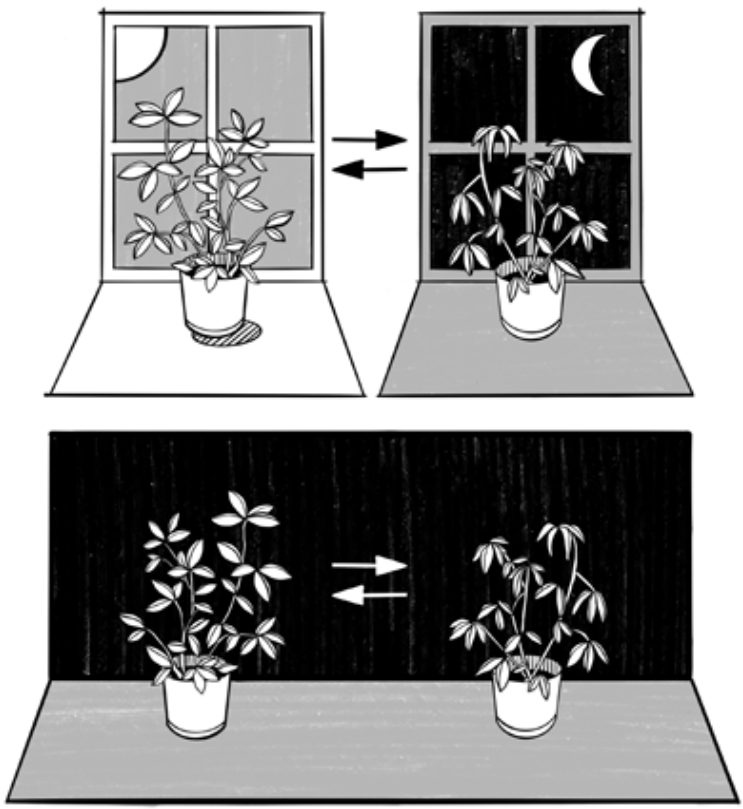


Рис. 29. Независимо от солнечного света листья цветка продолжают следовать своему суточному циклу

До этого считалось, что за регуляцию циркадных ритмов отвечает гипоталамус, контролирующий деятельность эндокринной системы. Опыты над многострадальной дрозофилой еще несколько десятилетий назад, в 1970-е годы, косвенно доказывали, что собственный механизм, отсчитывающий 24-часовой ритм, есть не только у целостного организма, но и у каждой его клетки. Десятилетие спустя будущие нобелевские лауреаты выделили участок хромосомы, в котором располагался

интересующий их протеин, и показали, что белок, названный ими PER (от слова *period*), накапливается ночью и распадается в течение дня.

Прошло еще десятилетие, прежде чем в 1994 году ученые смогли подтвердить свое предположение. Действительно, накопленный PER, проникая из цитоплазмы в ядро, блокирует работу гена, который отвечает за его же синтез. Таким образом обеспечиваются обратная связь и контроль. Майкл Янг обнаружил, что проникнуть PER в цитоплазму помогает белок TIM (от *timeless*, то есть «вневременный»). А за частоту колебаний, соответствующую 24-часовому циклу, отвечает третий ген – DBT (от *doubletime*, что означает «двойное время»), который может задерживать накопление PER. Таким образом, работа троицы генов сложилась в единую стройную концепцию.

Здесь изображена последовательность событий во время 24-часового цикла. Когда ген PER активен, производится мРНК. Она транспортируется в цитоплазму клетки и служит в качестве шаблона для производства PER-белка. Белок накапливается в ядре клетки, и активность гена PER снижается. Это порождает механизм ингибиторной обратной связи, которая лежит в основе суточного ритма.

Биологические часы участвуют во многих аспектах нашей сложной физиологии. Теперь известно, что все многоклеточные организмы, включая людей, используют аналогичный механизм для контроля циркадных ритмов. Большая часть наших генов регулируются биологическими часами, и, следовательно, тщательно откалиброванный циркадный ритм подстраивается под нашу физиологию на разных этапах дня. Открытие Джеффри Холла, Майкл Росбаша и Майкла Янга превратило циркадную биологию в обширное исследовательское поле, имеющее значение для нашего здоровья и благополучия. Нынешнее нобелевское открытие дало новый импульс персонализированному лечению. Считается, что Нобелевский комитет, присуждая премию, сообщает нечто важное научному миру и всему человечеству. Может быть, на этот раз суть месседжа состоит в том, что пора повернуться лицом к человеку, к его индивидуальности и настоящим потребностям? Если это так, то нас ждет неплохое будущее.

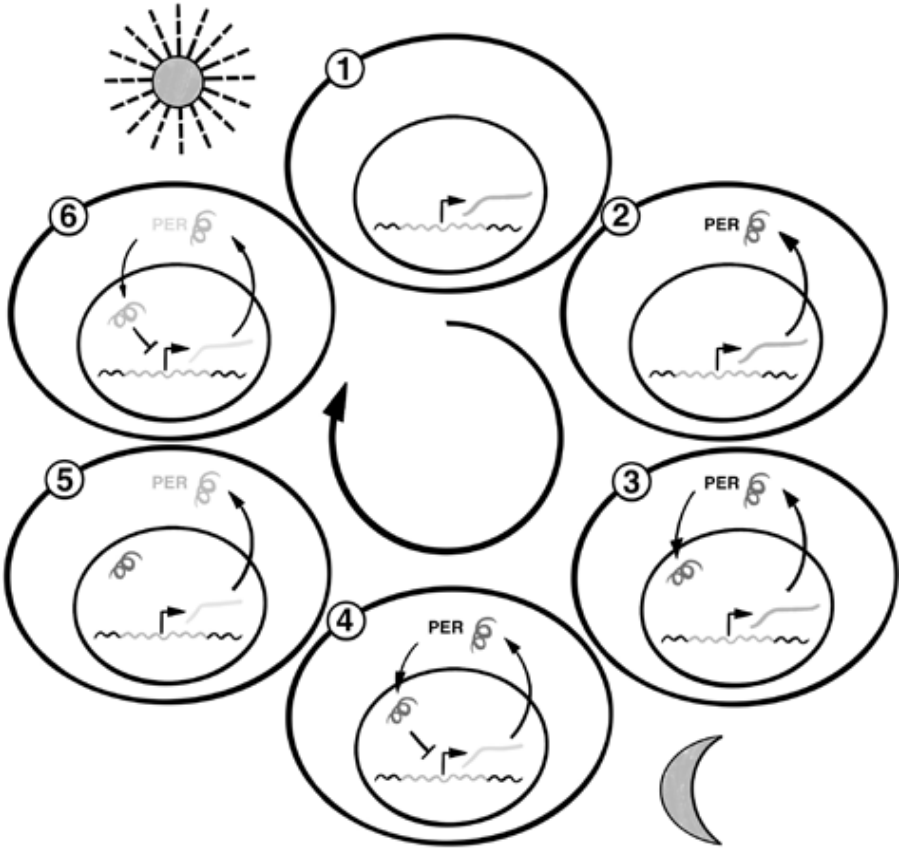


Рис. 30. Клеточный механизм обратной ингибиторной связи, лежащей в основе суточного ритма

Вместо заключения
Как стать нобелевским лауреатом

1. Придумать новый метод исследования или применить известный метод к новому объекту исследования.

Часто исследования, история которых триумфально заканчивается на церемонии вручения Нобелевской премии, начинаются благодаря родным и близким людям врачей и ученых. Путь Роберта Коха в основоположники немецкой школы бактериологов начался с того, что молодая супруга подарила ему на день рождения микроскоп с качественной оптикой. Роберт оставил не очень удачную карьеру врача и в результате разработал революционные методы исследования микробов. Прежде всего Кох решил повысить разрешающую способность микроскопа и сделал это, создав иммерсионный объектив. Кроме того, он разработал методику обработки препаратов анилиновыми красителями, которые избирательно окрашивали только микробные тела. Благодаря этому микробиологические исследования поднялись на новый научный уровень. Микрофотографии, которые при этом делал Кох, производили неизгладимое впечатление на его современников и позволили ему в чистом виде выделить и описать возбудителей сибирской язвы, туберкулеза и холеры. Эта работа принесла ему славу.

2. Внести принципиальное усовершенствование в уже существующий метод исследования или объединить два метода.

Чтобы произошло открытие, иногда должны объединиться не люди, а методы. Велико было желание ученых изучить клетку, ее морфологию и химический состав. Но силы светового микроскопа, который был в распоряжении биологов до середины XX века, на это не хватало. Перелом наступил в середине 1940-х годов с появлением двух новых технологий. Во-первых, был изобретен электронный микроскоп, позволивший изучить клеточные структуры: его разрешением, было гораздо выше, чем у светового микроскопа. Во-вторых, была разработана методика химического анализа

веществ, которые предполагалось изучать под электронным микроскопом. Методика заключалась в том, что гомогенизированные ткани или клетки с помощью центрифуги разделяли на компоненты, сходные по раз меру и весу. А клеточные органеллы с разным весом осаждались на дно пробирки. В самом низу оказывались ядра, за ними остальные органеллы, каждая в своей фракции, которую можно было выделить и изучить. Эта процедура, названная дифференциальным центрифугированием, дополнила структурные исследованиям с помощью электронного микроскопа. Так Кристианом де Дювом была подробно изучена клетка, схему которой сегодня мы можем видеть во всех учебниках по биологии.

3. Быть раздолбаем и забыть убрать чашку Петри или картофелину.

Третье революционное открытие Коха произошло, по преданию, благодаря его забывчивости. Когда-то микробы для исследований выращивали в питательном бульоне, что затрудняло получение чистой культуры возбудителя. Кох изобрел твердые питательные среды. При нанесении смеси микробов на такую среду каждый микроорганизм становится родоначальником своей собственной колонии микробов на том самом месте, где он на нее попал. Роберт Кох разработал несколько таких сред, типа агар-агара и желатина, которые применяют до сих пор для выращивания, изолирования и изучения чистых культур. А произошло открытие благодаря тому, что он забыл на столе разрезанную картофелину. Это не единственный случай, когда рассеянность ученого вместе с его наблюдательностью приводит к важным открытиям.

Фундаментальное открытие XX века произошло, по признанию его автора Александра Флеминга, благодаря удаче, случайному наблюдению и некоторой неопрятности. Уезжая на месяц в отпуск, Флеминг забыл убрать в холодильник несколько чашек Петри с посевами стафилококка, с которыми тогда работал. Когда он вернулся и собрался вымыть их, то обратил внимание, что многослойная пленка из миллиардов бактериальных клеток стафилококка, заполнившая всю чашку Петри, в одном месте отсутствовала. Вокруг грибка *Penicillium*, обычной хлебной плесени, возникла мертвая зона, как

будто что-то мешало бактериям расти в этом месте. Флеминг сразу понял, что грибок, питавшийся агар-агаром, выработал какое-то вещество, убившее стафилококк. Ученый назвал его пенициллином по названию производившего его грибка. Так началась эра антибиотиков, спасшая миллионы человеческих жизней.

4. Быть самоотверженным и провести на себе опасный эксперимент, подтверждающий выдвинутую гипотезу.

Во все времена были самоотверженные врачи, физиологи, готовые поручиться за верность своих идей жизнью и здоровьем. Следуя примеру Вернера Форсмана, который бесстрашно ввел катетер в собственное сердце, чтобы в начале XX века доказать возможность и безопасность таких операций, уже в наше время молодой ученый Барри Маршалл вызвался стать добровольцем для собственных исследований. Чтобы опровергнуть широко распространенный в медицинском мире миф о том, что гастрит возникает от стресса и неправильного питания, Барри выпил содержимое чашки Петри с культурой бактерии Хеликобактер пилори. Спустя 10 дней у него были обнаружены признаки гастрита и присутствие в слизистой желудка этой бактерии. Но и на этом эксперимент на самом себе не закончился. Маршалл прошел четырнадцатидневный курс лечения и выздоровел, доказав тем самым, что антибиотики эффективны в лечении многих, если не большинства, случаев гастрита, язв желудка и двенадцатиперстной кишки.

5. Быть мужчиной, а не женщиной.

Просмотрев список нобелевских лауреатов, можно сделать вывод: чтобы стать одним из них, надо нести в своем геноме половые хромосомы XY. Вопреки идее гендерного равенства упорная статистика доказывает, что лауреатов-мужчин – абсолютное большинство. Это связано с особенностями отбора и вручения премии. Нобелевский комитет отмечает открытия, совершенные некоторое время назад: ведь должно пройти время для их проверки и подтверждения. А еще 30 или 40 лет назад в научной среде многих стран женщин было намного меньше, чем мужчин. Предубеждений же против них, наоборот, было больше. Отбор кандидатов происходит

таким образом. За год до присуждения премии Нобелевский комитет рассылает тысячам исследователей запросы на номинирование в каждой области. На основе присланных заявок комитет номинирует около 300 возможных лауреатов, обобщая позицию экспертов со всего мира. Таким образом, Нобелевский комитет ограничен в своем выборе мнением экспертов, а среди их предложений большинство до сих пор составляли открытия, совершенные мужчинами. Из-за тех же особенностей отбора открытий, проверенных временем, среди лауреатов много людей немолодых. Скорее всего, в ближайшее время гендерные предрассудки уйдут в прошлое и среди портретов нобелевских лауреатов станет больше симпатичных женских лиц. В этом отношении область физиологии и медицины уже сейчас чуть впереди остальных «нобелевских» наук: в ней 12 женщин-лауреатов.

6. Команда: уметь увидеть и подхватить исследования коллег.

Открытие Флеминга забыли и вспомнили только в начале Второй мировой войны, когда срочно потребовались эффективные антибактериальные средства. В противном случае десятки тысяч солдат могли погибнуть от боевых ран, осложнений от пневмонии, инфекций брюшной полости, мочевых путей и кожи. Поэтому в 1940 году команда с факультета патологии Оксфордского университета, возглавляемая Хоуардом Флори и Эрнстом Чейном, начала искать способы выделения и концентрации большого количества пенициллина. Вскоре был найден штамм, который производил пенициллин в промышленных масштабах. Медицина получила мощное лекарство, спасшее сотни тысяч жизней, а Нобелевскую премию вместе с Флемингом разделили Флори и Чейн.

Примеров совместного научного творчества в истории Нобелевской премии по физиологии или медицине с каждым десятилетием становится все больше. И все чаще премию получает не исследователь-одиночка, а команда единомышленников. Правда, по условию, которое Альфред Нобель написал в своем завещании, их количество ограничено тремя.

Универсального рецепта, как стать нобелевским лауреатом, не существует. Кому-то повезло: случай помог сделать гениальное открытие в молодом возрасте, а кто-то шел к всемирному признанию, самоотверженно работая всю жизнь. Одно можно сказать точно: всех лауреатов Нобелевской премии объединяет

преданность физиологии и медицине и неугасающий интерес к научным исследованиям. А также непреодолимое желание понять, как устроен человеческий организм, с какими вирусными или неинфекционными пандемиями встретится человечество и как подготовить его к новым вызовам.

Библиография

Использованные ресурсы

Главный источник, на основании которого создана книга, – официальный сайт Нобелевской премии nobelprize.org: лекции нобелевских лауреатов по физиологии и медицине, краткие и расширенные пресс-релизы, поздравительные речи и биографии лауреатов на английском, немецком и шведском языках.

Дополнительно

1. Гётше П. Смертельно опасные лекарства и организованная преступность. – М.: Эксмо, 2016.
2. Де Дюв К. Путешествие в мир живой клетки. – М.: Мир, 1987.
3. Демичева О. Ю. Сахарный диабет (Академия доктора Родионова). – М.: Эксмо, 2019.
4. Мясников А. Л., Родионов А. В., Парамонов А. Д., Демичева О. Ю., Смитиенко И. О. Пора лечиться правильно. Медицинская энциклопедия. – М.: Эксмо, 2018.
5. Павлов И. Академик Павлов. Избранные сочинения. – М.: Эксмо, 2015.
6. Фоссель М. Теломераза. Как сохранить молодость, укрепить здоровье и увеличить продолжительность жизни. – М.: Эксмо, 2017.
7. Фролов В. А. Война с микробами. Интригующие подробности открытия Мечникова. – М.: Эксмо, 2008.
8. Шестова О. Л. Возраст: парадоксы, преимущества и решения. – М.: Эксмо, 2019.
9. Thompson S.P. Bright Line Eating. The Science of Living Happy, Thin & Free. – Carlsbad: Hay House, 2017.

Об авторах

Ольга Шестова – физиолог, выпускница биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова; медицинский работник, защитивший кандидатскую диссертацию, проведя исследования по изучению резистентности антибиотиков при лечении заболеваний в клинике и эксперименте. С тех пор и на протяжении более 25 лет ее жизнь связана с медициной и издательской, просветительской деятельностью. Ольга запустила несколько медицинских журналов, выпустила более 1000 профессиональных и популярных книг самых уважаемых врачей общим тиражом более 5 млн экземпляров. Два года назад она с командой «Эксмо» запустила образовательную программу для людей без медицинского образования «Пора лечиться правильно» и стала ее лицом. Она регулярно встречается с читателями в Москве в крупных книжных магазинах, на важных книжных мероприятиях («Книги России» на Красной площади, ММКВЯ), выезжала на встречи в Петербург, Смоленск, Воронеж, Уфу, Ульяновск, Екатеринбург и другие города России. Ее интервью и вебинары интересны тысячам людей, думающих о своем здоровье, а ее ток-шоу на «Одноклассниках» посмотрели 6,3 млн человек. Ольгу регулярно приглашают в качестве эксперта в популярные теле- и радиоэфиры на центральных ТВ- и радиоканалах.

Автор книг «Почему мы болеем», «Возраст: преимущества, парадоксы и решения», «Красивое долголетие: 10С против старения», изданных общим тиражом более 100 тысяч экземпляров.

Ее книги высоко оценивает врачебное сообщество, отмечая, что они «эмоционально близки читателю: информация без намека на шарлатанство, но и без прямолинейности каноничных медицинских текстов. Тут не навязываются никакие истины и одновременно много совершенно конкретных полезных советов» (А. Л. Мясников). Со своими читателями Ольга находится на постоянной связи, отвечая на их вопросы в письмах, социальных сетях и лично.

Лев Иноземцев – выпускник Московского физико-технического института (Физтеха), факультета биологической и медицинской физики. Диссертацию магистра защитил на кафедре молекулярной и клеточной биологии. Научные интересы связаны с экспериментальным изучением взаимодействия белков промежуточных филаментов с митохондриями и его роли в жизнедеятельности клетки.

notes

Сноски

1

Нобелевская премия была вручена с формулировкой «in recognition of their work on immunity», то есть «в знак признания их работ по иммунитету».

2

По мотивам книги Никиты Жукова «Модицина. Encyclopedia Pathologica» (М.: АСТ, 2017).

3

Предварительные данные, основанные на ежемесячных данных, представленных ВОЗ (Женева) по состоянию на апрель 2019 года. Источник: https://www.who.int/immunization/newsroom/measles-data-2019/ru/.